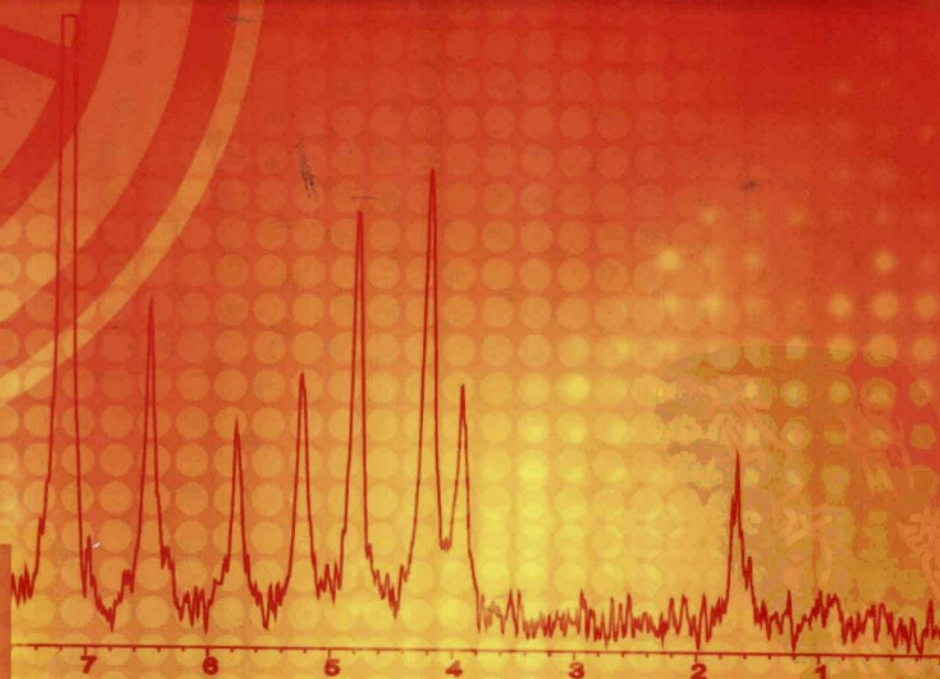
高等学校教材

Fundamentals of Spectroscopy

波谱学基础

罗素琴 刘乐乐 王建华 主编

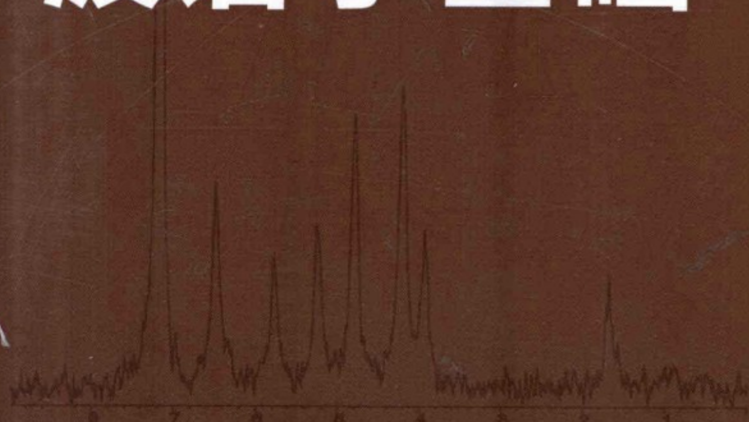




化学工业出版社

Fundamentals of Spectroscopy

波谱学基础





ISBN 978-7-122-13381-6

9 787122 133816 >

定价：18.00元



高等学校教材

Fundamentals of Spectroscopy

波谱学基础

罗素琴 刘乐乐 王建华 主编



化学工业出版社

·北京·

本书简明阐述了紫外、红外、质谱、核磁共振光谱和扫描隧道显微技术的基本原理及其在有机化合物结构分析和一些药物结构分析中的应用，并精选了一些具有代表性的谱图和实例。这些光谱技术用于在结构鉴定中处理各种谱图与分子结构的关系，本书内容简明、易懂。

本书可作为临床医学及相关专业本科生使用的教材和参考书，也可供其他人员参考。

图书在版编目（CIP）数据

波谱学基础/罗素琴，刘乐乐，王建华主编. —北京：化学工业出版社，2012.3

高等学校教材

ISBN 978-7-122-13381-6

Ⅰ. 波… Ⅱ. ①罗…②刘…③王… Ⅲ. 波谱学-高等学校-教材 Ⅳ. O581

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2012）第 017226 号

责任编辑：宋林青　　文字编辑：孙凤英

责任校对：洪雅姝　　装帧设计：史利平

出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街 13 号　邮政编码 100011）

印　　装：大厂聚鑫印刷有限责任公司

710mm×1000mm　1/16　印张 8　字数 147 千字　2012 年 5 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686）　售后服务：010-64518899

网　　址：http：//www.cip.com.cn

凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。

定　　价：**18.00 元**

《波谱学基础》编写组

主　　编　罗素琴　刘乐乐　王建华

编写人员（以姓名拼音为序）

巴俊杰　布　仁　刘乐乐　罗素琴

王建华　云学英　张振涛



前　言

波谱学知识的应用在有机化合物的结构测定中具有不可代替的作用，波谱学的应用范围很广，为了让大家更好地了解波谱学在有机化合物结构测定中的方法，及在生物医学中的一些应用，我们编写了此教材。本书在知识结构中仍以四大谱为基础，即紫外（UV）、红外（IR）、质谱（MS）、核磁共振（^{1}H NMR），在内容上做到简明扼要、易懂易学，使同学们在对理论知识有初步了解的基础上，加大应用方面的知识内容，对其应用范围及在生物医学中的应用，尽量密切联系。把这些技术的突出优点介绍给学生，对每一种波谱方法都做了比较清楚的介绍，着重于结合实例运用光谱数据解析图谱，帮助学生了解和熟练地掌握运用这些光谱方法。

最后一章为知识拓展，介绍了扫描隧道显微（STM）技术在分子结构、分子生物医学中的应用，以开拓视野，使学生对这一领域的知识有更多了解。

由于编者学识水平有限，且波谱学技术涉及学科广泛，书中难免有不妥之处，欢迎同行批评指正。

编者

2011 年 11 月

目　　录



第一章 紫外光谱

第一节 基础知识

一、紫外光谱

紫外光谱（ultraviolet spectroscopy）常用 UV 作为代号，是从 ultraviolet 中 UV 二字而来的。

在紫外光谱中，波长用纳米（nm）表示。紫外分远紫外区和近紫外区两部分，它们介于 X 射线的长波区段与可见光的短波区段之间，如表 1-1 所示。

表 1-1 电磁波的分区

区　　域	波　　长	原子或分子的跃迁类型
γ-射线	0.001～0.1nm	原子核
X-射线	0.1～10nm	内层电子
远紫外	10～200nm	中层电子
紫外	200～400nm	外层(价)电子
可见光	400～760nm	外层(价)电子
红外线	0.76～50μm	分子振动和转动
远红外	50～1000μm	分子振动和转动
微波	0.1～100cm	分子转动
无线电波	1～1000m	核磁共振

远紫外区波长在 10～200nm，此范围波长能被空气中的氧所吸收，因此必须将空气除掉，在真空中进行工作，这个区域的吸收光谱，称真空紫外，在技术上要求很高，一般不易操作，在有机化学中用途不大。近紫外区波长在 200～400nm，一般的紫外光谱是指这一区域的吸收光谱，对共轭体系有吸收，在有机化学中有应用价值。波长在 400～800nm 称可见光谱。常用的分光光度计常包括紫外及可见两部分，波长在 200～800nm（或 200～1000nm）。

二、电子跃迁

紫外光谱是电子光谱的一部分，电子光谱是由电子跃迁而产生的吸收光谱的总称，它还包括可见吸收光谱。当两个原子轨道相互作用，形成分子轨道时，放出大量的热形成 σ 或 π 成键轨道，同时生成相应的 σ* 或 π* 反键轨道。成键轨道能量较低，成键电子均在成键轨道中，反键轨道能量较高，因此反键轨道是空的。成键轨道中的电子，吸收一定能量之后，可激发到反键轨道。由于 σ 键成键时放出的能量较 π 键成键时放出的能量多，故 σ 轨道的能量较 π 轨道的能量低，σ→σ* 跃迁的能量也较 π→π* 跃迁的能量高。氧、氮、卤素、硫等原子中，除成键电子外，还有孤电子对，这些孤电子对所占的原子轨道未参与作用，称非键轨道，亦称 n 轨道，这些 n 轨道的电子在成键过程中，能量没有什么变化，因此 n 轨道中电子的能量较 σ 轨道与 π 轨道中的电子能量高。图 1-1 是各轨道能量高低排列以及各种电子跃迁的相对能量。

由于化合物不同，所含价电子的类型不同，因而产生的电子跃迁类型也不同。

1. 饱和有机化合物

对于分子中只有 C—C 键与 C—H 键的分子，只能发生 σ→σ* 跃迁。由于 σ 电子不易激发，故跃迁需要的能量较大。如 CH_4 的 σ→σ* 跃迁在 125nm。饱和烃的吸收一般波长在 150nm 左右，即在远紫外区真空紫外。

如果饱和烃中的氢被氧、氮、卤素等原子或基团取代，这些原子中 n 轨道的电子可以发生 n→σ* 跃迁，见图 1-2。

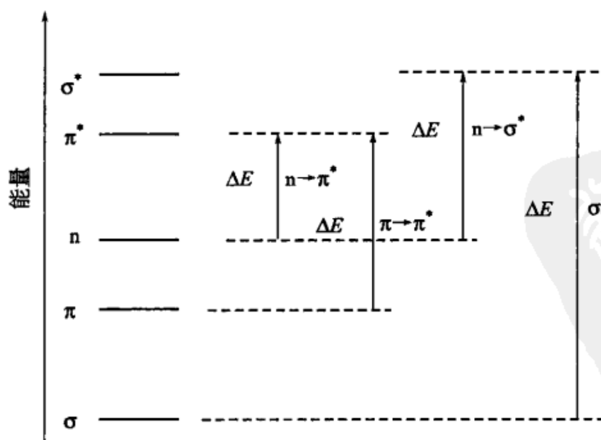


图 1-1　各种电子跃迁的相对能量

表 1-2 列举一些能进行 n→σ* 跃迁的化合物。

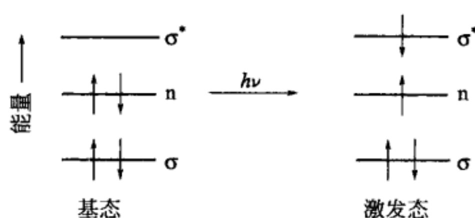


图 1-2 n→σ* 跃迁

表 1-2 一些能进行 n→σ* 跃迁的化合物及吸收波长

化　　合　　物	λ_{max}/nm(ε)
CH_3Cl	172(弱)
CH_3OH	183(150)
CH_3OCH_3	185(2520)
CH_3Br	204(200)
CH_3NH_2	215(600)
CH_3I	258(365)

从表 1-2 可以看出，具有 C—O（醇、醚）、C—Cl 等键的分子，其 n→σ* 跃迁的吸收光波长小于 200nm，在真空紫外，而具有 C—Br、C—I、C—N 等键的分子，其 n→σ* 跃迁的吸收光波长大于 200nm，可以在近紫外区看到不强的吸收。这些化合物在吸收光谱上的差别，主要是由于原子的电负性不同，原子的电负性强，吸引电子的能力强，激发电子需要的能量大，吸收光的波长短；反之，原子的电负性较弱，吸引电子的能力较弱，激发电子需要的能量亦较小，可以在近紫外区出现吸收。

由于饱和烃、醇、醚等在近紫外区不产生吸收，因此在紫外光谱中常用作溶剂。

2. 不饱和脂肪族化合物

(1) π→π* 跃迁

C═C 双键可以发生 π→π* 跃迁。由于原子核对 π 电子的控制能力不如对 σ 电子的控制能力强，因此 π→π* 跃迁所需能量较 σ→σ* 跃迁小。但是只有一个 C═C双键的 π→π* 跃迁吸收，在真空紫外区。例如乙烯的 π→π* 跃迁在 185nm，在近紫外区不能检出。同样 C≡C 与 C≡N 等 π→π* 跃迁的吸收亦小于 200nm。

如果分子中有两个或两个以上的双键形成共轭体系，由于分子轨道的相互作用，可以形成新的成键轨道与反键轨道，电子占有的成键轨道的最高能级与未占电子的反键轨道的最低能级差减小，使 π→π* 跃迁所需的能量减少，因此吸收向长波方向位移。例如 1,3-丁二烯分子中两对 π 电子填满 π_1 与 π_2 成键轨道，

π_3^* 与 π_4^* 反键轨道是空的，当吸收了一定的能量后，便发生 $\pi_2 \rightarrow \pi_3^*$ 跃迁，实现$\pi_2 \rightarrow \pi_3^*$ 跃迁吸收的能量比乙烯 C═C 的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁要小。见图 1-3。

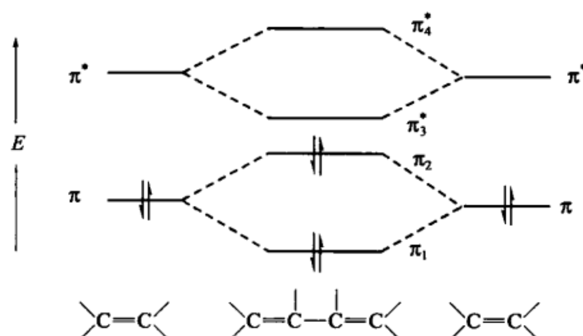


图 1-3　1,3-丁二烯和乙烯跃迁的相对能量

在这种分子中，电子的跃迁可以有多种激发态，但是在有机分子中比较重要的是能量最低的跃迁，因为这种跃迁在近紫外区吸收，如 1,3-丁二烯的 $\pi_2 \rightarrow \pi_3^*$ 跃迁 λ_{max}＝217nm（表 1-3），而其他跃迁能级相差较高，需要能量较大，在真空紫外吸收。随着共轭双键的逐渐增多，跃迁能级相差逐渐变小，吸收愈向长波方向位移，即由近紫外移向可见吸收。

表 1-3　多烯化合物的吸收带

化　合　物	双键数	λ_{max}/nm(ε)	颜色
乙烯	1	185(10000)	无色
丁二烯	2	217(21000)	无色
1,3,5-己三烯	3	258(35000)	无色
癸五烯	5	335(118000)	淡黄
二氢-β-胡萝卜素	8	415(210000)	橙黄
番茄红素	11	470(185000)	红

由于共轭体系吸收带的波长在近紫外，因此在紫外光谱的应用上，占有重要地位，对于判断分子的结构非常有用。

（2）$n \rightarrow \pi^*$ 跃迁

含有双键与孤电子对的基团，如 C═O、C═S、N═N 等，除了可以进行 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁有较强的吸收外，还可以进行 $n \rightarrow \sigma^*$ 跃迁，这种跃迁所需能量较少，可以在近紫外或可见光区有不太强的吸收。例如脂肪醛中 C═O 的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收在约 210nm 处，$n \rightarrow \pi^*$ 跃迁吸收在约 290nm 处，见图 1-4。

如果 C═O 与 C═C 共轭，形成含有杂原子的共轭体系，与碳碳共轭类似，可以形成新的成键轨道与反键轨道，使 $\pi \rightarrow \pi^*$ 与 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁的能级差减小，吸

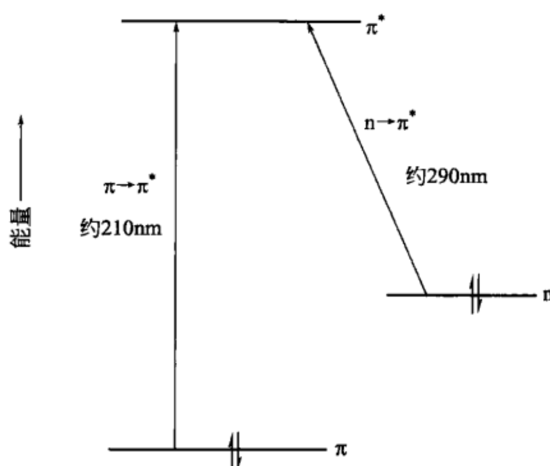


图 1-4 脂肪醛的 $\pi\to\pi^*$ 和 $n\to\pi^*$ 跃迁

收向长波方向位移，例如丁烯醛的 $\pi_2\to\pi_3^*$ 和 $n\to\pi_3^*$ 跃迁与脂肪醛相应的跃迁比较，吸收均向长波位移，见图 1-5。

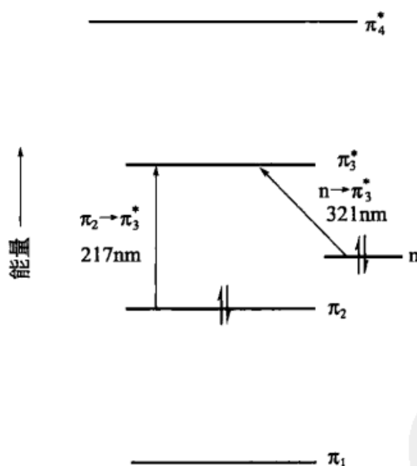


图 1-5 丁烯醛的 $\pi_2\to\pi_3^*$ 和 $n\to\pi_3^*$ 跃迁

通常吸收峰向长波方向的移动叫向红位移（bathochromic shift）或叫红移（red shift）；相反，吸收峰向短波方向的位移则称为向紫位移（hypsochromic shift）或蓝移（blue shift）。

三、朗伯-比尔定律及紫外光谱图

1. 朗伯-比尔定律

当一束单色光（I_0）射入溶液时，一部分光（I_t）透过溶液，一部分光被溶液所吸收。溶液对单色光的吸收程度遵守朗伯-比尔定律（Lambert-Beer's Law），即：溶液对光的吸收程度与溶液的浓度、液层厚度成正比。这个定律可用数学公式表示如下：

$$A=\varepsilon bc=-\lg\frac{I_t}{I_0}$$

式中 A——吸光度（又称消光度，用 E 表示，或称光密度，用 D 表示）；

ε——摩尔吸光系数，$L\cdot mol^{-1}\cdot cm^{-1}$；

c——物质的量浓度，$mol\cdot L^{-1}$；

b——液层厚度，cm；

I_0——入射光强度；

I_t——透射光强度。

在实际工作中，常用透光度 T 表示。即 $T=\frac{I_t}{I_0}\times100\%$。

例如：某化合物的 λ_{max} 为 235nm，现用 235nm 的入射光通过浓度为 $2.0\times10^{-4}mol\cdot L^{-1}$ 的样品溶液（液层厚度为 1cm）时，其透光度为 20%，求其摩尔吸收系数 ε。

解：$\lg\frac{I_t}{I_0}=-\varepsilon cb$

其中 $b=1cm$，$c=2.0\times10^{-4}mol\cdot L^{-1}$

$$\lg\frac{I_t}{I_0}=\lg0.20=-0.70$$

$$-0.70=-\varepsilon(2.0\times10^{-4}mol\cdot L^{-1}\times1.0cm)$$

$$\varepsilon=3.5\times10^{3}L\cdot mol^{-1}\cdot cm^{-1}$$

2. 紫外光谱图

紫外分光光度仪可以直接绘出样品的紫外光谱图，即紫外光谱曲线。图 1-6 是木樨草素的紫外光谱图。

横坐标是波长，单位为 nm，纵坐标为吸收强度，多用吸光度（A）、摩尔吸光系数（ε）或 $\lg\varepsilon$ 表示。

光谱曲线中的最高峰，即最大吸收峰（λ_{max}），相当于跃迁时所吸收光的波长。曲线中的波谷称为吸收谷或最小吸收（λ_{min}）。有时在曲线中还可看到肩峰或弯曲。图 1-6 中，1 及 5 为吸收峰，2 及 4 为肩峰，3 为吸收谷。

在文献中，化合物的紫外光谱特征还可用文字符号表示。例如，芦丁在乙醇中测定的紫外光谱可表示为 λ_{max}^{EtOH}(nm)：258($\lg\varepsilon$ 4.37)、361($\lg\varepsilon$ 4.29)。在 λ 的右上角注明测定用的溶剂，其后的数据为吸收峰所在的波长，各峰位数字后面的括弧内注明该峰的强度，多用 ε 或 $\lg\varepsilon$ 表示。

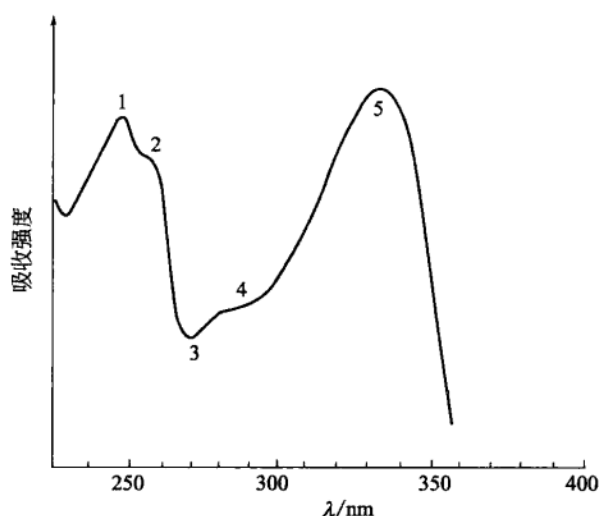


图 1-6 木樨草素的紫外光谱图

峰的高度与浓度及化合物的结构有关。由 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁引起的吸收强度一般比 $n\rightarrow\pi^*$ 及 $n\rightarrow\sigma^*$ 跃迁要强 10～100 倍。跃迁时分子的极化程度越高，吸收峰也越强。

四、几种效应

1. 超共轭效应

在共轭体系中连有烷基时，烷基中 C—H 键的电子可以与共轭体系的 π 电子重叠，产生超共轭效应，其结果使电子的活动范围增大，吸收向长波方向位移，但与共轭效应相比，增加波长的作用不是很大，但对化合物结构的鉴定还是有用的。表 1-4 列举了在共轭体系上存在烷基对吸收波长的影响。

表 1-4 共轭体系上连有烷基对吸收波长的影响

化合物	λ_{max}/nm
$CH_2{=}CH{-}CH{=}CH_2$	217
$CH_3CH{=}CH{-}CH{=}CH_2$	222
$CH_3CH{=}CH{-}CH{=}CHCH_3$	227
$CH_2{=}C(CH_3){-}C(CH_3){=}CH_2$	227
$CH_2{=}CH{-}C({=}O){-}CH_3$	219
$CH_3CH{=}CH{-}C({=}O){-}CH_3$	224

续表

化合物	λ_{max}/nm
$(CH_3)_2C{=}CH{-}C({=}O){-}CH_3$	235
苯（C_6H_6）	255
$C_6H_5{-}CH_3$	261

2. 助色效应

分子中产生所示吸收带的主要官能团称为生色团（chromophore）。这里的吸收带往往处在一般仪器的测量范围内即波长＞210nm，属于 $\pi\rightarrow\pi^*$ 、$n\rightarrow\pi^*$ 等的跃迁，生色团为不饱和基团，如 C═C，NO_2， C═O， C═S 等。当具有非键电子的原子与生色团相连时，就会产生非键电子与 π 电子的 p-π 共轭，使电子活动范围增大，吸收向长波方向位移，使颜色加深，这种效应，称助色效应，这种基团称为助色团（auxochrome），如—OH、—OR、—NH_2、—NR_2、—SR、卤素等均是助色团。表 1-5 为乙烯体系、α,β-不饱和羰基体系及苯环体系被助色团取代后波长的增值。

表 1-5　乙烯体系、α,β-不饱和羰基体系及苯环体系被助色团取代后波长的增值

体系	NR_2	OR	SR	Cl	Br
X—C═C	40	30	45	5	—
X—C═C—C═O	95	50	85	20	30
X—C_6H_5 带Ⅱ	51	20	55	10	10
带Ⅲ	45	17	23	2	6

注：X 为助色团。

3. 空间效应

在分子中相邻的生色团由于空间效应而不能很好地共平面时，对化合物的吸收波长及 ε 值均有影响。例如二苯乙烯由于存在双键，具有顺反异构体，反式异构体的两个苯环可以与烯的 π 键共平面，形成一个大共轭体系，它的紫外吸收峰在 $\lambda_{max}=290nm$（$\varepsilon=27000$）；而顺式异构体两个苯环在双键的一边，由于空间位阻不能很好地共平面，共轭作用不如反式的有效，它的紫外吸收峰 $\lambda_{max}=280nm$（$\varepsilon=14000$）。这种由于空间阻碍使共轭体系不能很好共平面而引起的吸收波长与 ε 值的变化，在紫外吸收光谱中是一种普遍现象。图 1-7 是顺、反二苯乙烯的紫外吸收光谱。

4. 溶剂效应

由于溶剂与溶质分子间形成氢键、偶极极化的影响，可以使溶质吸收波长发生位移，如 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁，激发态比基态的极性强，极性溶剂对激发态的作用比基态强，故激发态的能量降低较多，基态与激发态之间的能量相差减小，吸收向长波位移。如 $n\rightarrow\pi^*$ 跃迁，在质子溶剂中，溶质氮或氧上 n 轨道中的电子可以被质子溶剂质子化，质子化后的杂原子增加了吸电子的作用，吸引 n 轨道的电子更靠近核而能量降低，故基态分子的 n 轨道能量降低，$n\rightarrow\pi^*$ 跃迁的能量差较前为大，使吸收向短波位移，见图 1-8。

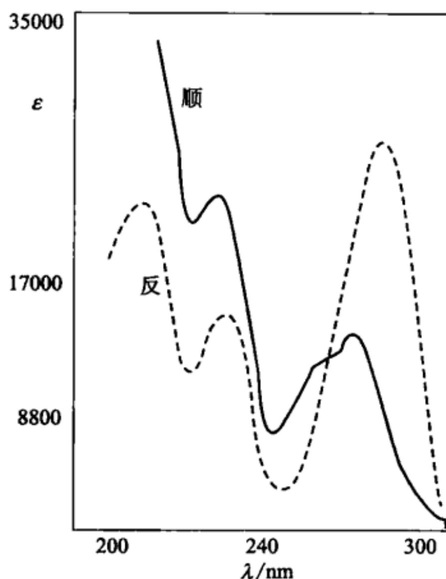


图 1-7 顺、反二苯乙烯的紫外吸收光谱

溶剂对基态、激发态与 n 态的作用不同，对吸收波长的影响亦不同，极性溶剂比非极性溶剂影响大。因此在记录吸收波长时，需要写明所用溶剂，紫外光谱中常用溶剂为水、甲醇、乙醇、己烷或环己烷、1,4-二氧六环等。测定非极性化合物的紫外光谱，多用环己烷作溶剂，尤其是芳香化合物。在环己烷中测定的紫外光谱能显示出其特有的精细结构。测定极性化合物时，多用甲醇或乙醇作溶剂。在选择溶剂时，还要注意溶剂本身的透明范围（在此范围内，该溶剂无吸收），例如测定丁二烯的紫外光谱（$\lambda_{max}=217nm$），显然不能用氯仿作溶剂，因为氯仿在此范围内（245nm 以下）不透明，干扰样品的测定。常用溶剂的透明

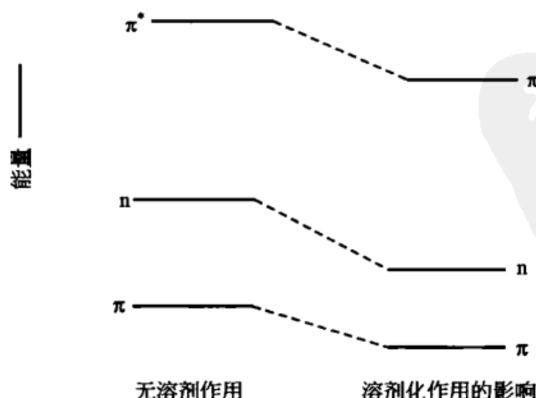


图 1-8 溶剂效应

范围见图 1-9。

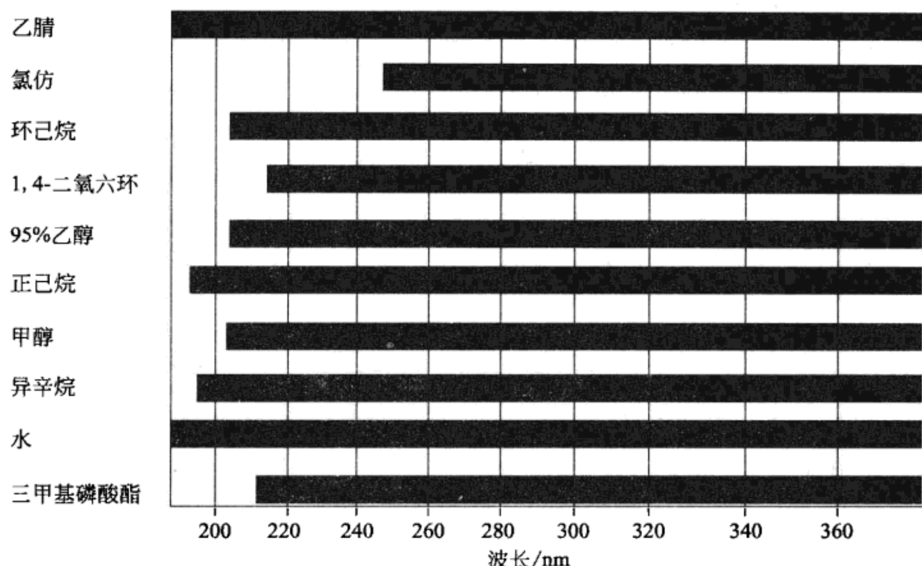


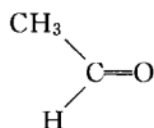
图 1-9　常用溶剂的透明范围

五、吸收带

跃迁类型相同的吸收峰称为吸收带，其波长范围和吸收强度是借以鉴定化合物结构的依据，常见的吸收带有以下四种。

1. R 带

R 带为由 $n\rightarrow\pi^*$ 跃迁引起的吸收带。产生该吸收带的生色团是分子中的 p-π 共轭体系，如 $>C=O$ 、$-NO_2$、$-CHO$ 等。该带的特点是吸收强度很弱，$\varepsilon_{max}<100(\lg\varepsilon<2)$，吸收峰的波长一般在 270nm 以上。例如：



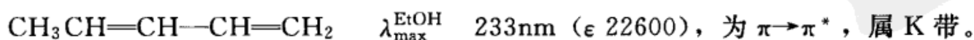
$\lambda_{max}^{庚烷}$ 291nm（ε 11），为 $n\rightarrow\pi^*$，属 R 带。



$CH_2=CH-CHO$　λ_{max}^{EtOH} 315nm（ε 14），为 $n\rightarrow\pi^*$，属 R 带。

2. K 带

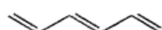
产生 K 带的生色团是分子中的共轭双键体系，为 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁所引起。该带的特点是吸收峰很强（$\varepsilon_{max}>10000$ 即 $\lg\varepsilon>4$）。共轭双键增加，不但 λ_{max} 向红位移，且 ε_{max} 也随之增加。例如：



$CH_3CH=CH-CH=CH_2$　λ_{max}^{EtOH} 233nm（ε 22600），为 $\pi\rightarrow\pi^*$，属 K 带。



$\lambda_{max}^{环己烷}$ 226nm（ε 21400），为 π→π*，属 K 带。



λ_{max} 258nm（ε 35000），为 π→π*，属 K 带。

3. B 带

B 带是由苯环（包括芳杂环）的 π→π* 跃迁引起的，为一宽峰，并出现若干小峰（或称微细结构），在 230～270nm 之间，中心在 254nm，ε 约为 204（见图 1-10）。B 带的微细结构常用来识别芳香化合物。苯环被取代后，微细结构消失或部分消失。

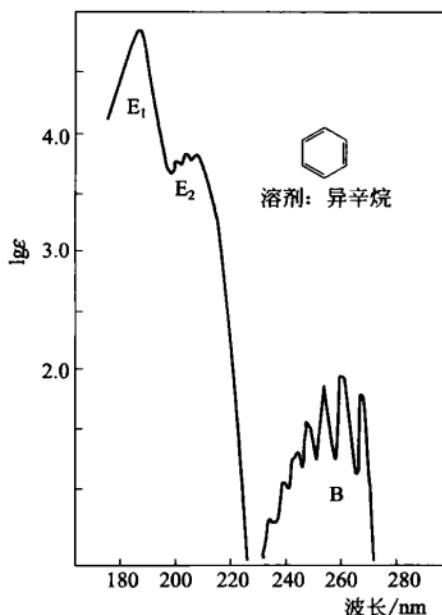
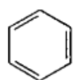


图 1-10 苯的 B 带和 E 带

4. E 带

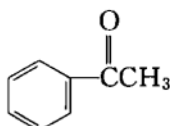
E 带是由苯环内乙烯基的 π→π* 跃迁引起，也是芳香化合物的特征吸收，波长短于 B 带。E 带又分为 E_1 和 E_2 两个吸收带。通常 E_1 带的吸收峰在 184nm 左右，吸收特别强，lgε>4，此带一般紫外光谱仪上看不到，有时在近紫外区可形成强吸收，平常所讲的 E 带即指 E_1 带；E_2 带由苯环中共轭烯键引起，相当于前述的 K 带。如图 1-10。



λ_{max} 184nm（ε 68000），E_1 带。

λ_{max} 240nm（ε 8800），E_2 带。

总之，芳香环一般都有 π→π* 跃迁产生的三个吸收带，即 B 带、E 带和 K 带。苯环上引入生色团往往可使 B 带和 K 带在不同程度上向长波移动，并可使 B 带吸收强度有所增大。例如，苯乙酮可产生 R 带（n→π*）、K 带及 B 带（π→π*），因而应有三个吸收峰，分别为：



λ_{max} 319nm（ε 50），R 带；

λ_{max} 240nm（ε 13000），K 带；

λ_{max} 278nm（ε 1100），B 带。

由以上数字可以看出：苯乙酮的 K、B 两带与苯的 E_2 及 B 带相比，显著红移。其 R 带与丙酮（λ_{max} 276.5nm）相比也有红移。这是由于在苯乙酮中，羰基

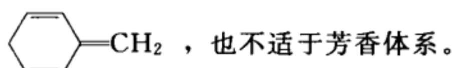
与苯形成共轭体系的缘故。

第二节 不饱和有机化合物的紫外吸收峰及计算方法

一、共轭烯烃的 λ_{max}

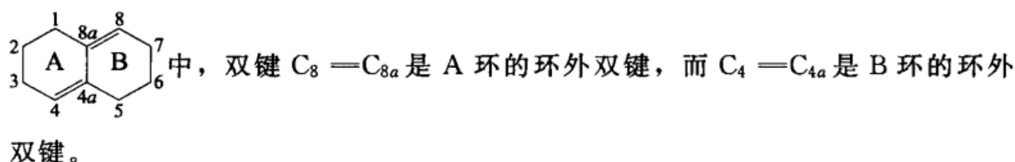
1. 共轭二烯、三烯及四烯 λ_{max} 的计算

共轭体系增长，λ_{max} 即向红移动。当共轭体系中的氢原子被其他官能团取代时，λ_{max} 也作规律性的改变。Woodward 总结了很多实验数据，得到一定的规律（表 1-6），据此可以计算共轭烯烃的 $\lambda_{max}^{己烷}$。以丁二烯为母体，基本吸收波长为 217nm。每增加一个烷基，波长增加 5nm。共轭体系中每增加一个双键，λ_{max} 增加 30nm。如果两个双键在同一环内，如 1,3-环己二烯，波长增加 36nm。共轭体系的每个环外双键增加 5nm。上述规律不适于交叉共轭体系，如



，也不适于芳香体系。

环外双键是指在某一环的环外并与该环直接相连的双键。如在结构



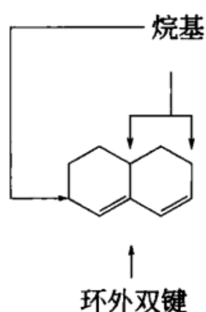
中，双键 $C_8=C_{8a}$ 是 A 环的环外双键，而 $C_4=C_{4a}$ 是 B 环的环外双键。

表 1-6 Woodward 计算规则

基数(共轭二烯基本吸收带)	217nm
增加值——	
1. 二烯在同一环内(同环二烯)	36nm
2. 每个烷基(或环基)	5nm
3. 环外双键	5nm
4. 增加一个共轭双键	30nm
5. 助色团—OCOR	0nm
—OR	6nm
—SR	30nm
—Cl,—Br	5nm
—NR^1R^2	60nm

计算实例如下。

例 1 计算下述化合物的 $\lambda_{max}^{己烷}$。



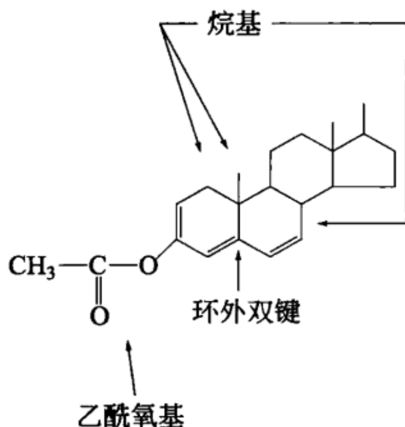
解：

基值	217nm
环外双键	+5nm
烷基（5×3）	+15nm

$\lambda_{max}^{己烷}$（计算值）=237nm

实测值=235nm

例 2 计算下述化合物的 $\lambda_{max}^{己烷}$。



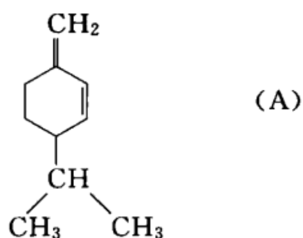
解：

基值	217nm
共轭双键（增 1）	+30nm
同环二烯	+36nm
烷基（5×3）	+15nm
乙酰氧基	0nm
环外双键（1）	+5nm

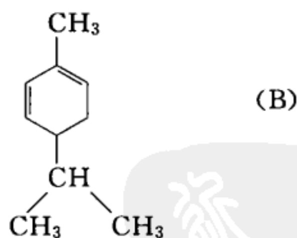
$\lambda_{max}^{己烷}$（计算值）=303nm

实测值=304nm

例 3 水芹烯有两种异构体，其结构经其他方法测定为（A）及（B）。其紫外光谱：α 体为 λ_{max} 263（ε 2500）；β 体为 λ_{max} 231nm（ε 9000）。试问（A）及（B）何者为 α 体何者为 β 体？



（A）



（B）

解： 根据 Woodward 规则计算出（A）及（B）两结构的 λ_{max}。

	（A）	（B）
基值	217nm	217nm
烷基	+10nm（5×2）	+15nm（5×3）
环外双键	+5nm（5×1）	0nm
同环二烯	0nm	+36nm
	λ_{max}=232nm	λ_{max}=268nm

以上计算可知：结构（A）的计算值（λ_{max} 232nm）与 β 体的实测值（231nm）相近，故结构（A）应为 β 体，而结构（B）为 α 体。

2. 共轭多烯吸收峰的计算

Woodward 规则仅适合于计算共轭二烯至共轭四烯的 λ_{max}。对于共轭链更长的化合物，如胡萝卜素，其 λ_{max} 及 ε_{max} 的计算可采用 Fieser-Kuhn 公式：

$$\lambda_{max}^{己烷}=114+5M+n(48-1.7n)-16.5R_{endo}-10R_{exo}$$

$$\varepsilon_{max}^{己烷}=1.74\times10^4 n$$

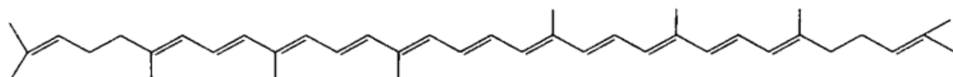
式中 M——烷基数；

n——共轭双键数；

R_{endo}——具有环内双键的环数；

R_{exo}——具有环外双键的环数。

例如，全反式番茄烯，其结构为



计算 λ_{max}。

$M=8$，$n=11$（注意两端双键未与其他双键共轭），$R_{endo}=0$，$R_{exo}=0$

所以，$\lambda_{max}=114+5\times8+11\times(48-1.7\times11)-16.5\times0-10\times0$

$=476.30$nm（计算值）

实测值＝474nm。

计算 ε_{max}。

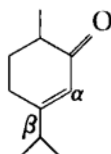
$\varepsilon_{max}=1.74\times10^4\times11=19.1\times10^4$（计算值），实测值＝$18.6\times10^4$。

二、α,β-不饱和醛、酮、酸、酯吸收峰的计算方法

α,β-不饱和醛、酮、酸、酯的 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁，其 λ_{max}^{EtOH} 计算方法与共轭烯烃类似，具体规律见表 1-7。

计算实例如下。

例 1 计算下列化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



α,β-不饱和六元环酮基值	215nm
烷基（β 位 12×2）	+24nm

λ_{max}^{EtOH}（计算值）＝239nm

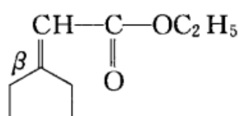
表 1-7 α,β-不饱和羰基化合物① K 吸收带波长②的计算法

基值-			—OAc	α β δ	6nm
α,β-不饱和醛		207nm	—OR	α	35nm
α,β-不饱和酮		215nm		β	30nm
α,β-不饱和六元环酮		215nm		γ	17nm
α,β-不饱和五元环酮		202nm		δ	31nm
α,β-不饱和酸或酯		193nm	—SR	β	85nm
增加值—			—Cl	α	15nm
增一个共轭双键		30nm		β	12nm
烷基或环基	α	10nm	—Br	α	25nm
	β	12nm		β	30nm
	γ 或更高	18nm	—NR^1R^2	β	95nm
—OH	α	35nm	每个环外双键		5nm
	β	30nm	同环二烯		39nm
	γ	50nm			

① α,β-不饱和羰基化合物的母体结构 $\beta-\overset{\beta}{C}=\overset{\alpha}{C}-C=O$ 和 $\delta-\overset{\delta}{C}=\overset{\gamma}{C}-\overset{\beta}{C}=\overset{\alpha}{C}-C=O$。

② 本表数据适合乙醇为溶剂的情况。

例 2 计算下列化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



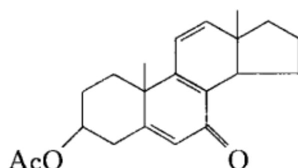
解： 基值（酯类） 193nm

烷基（β 位 12×2） +24nm

环外双键 +5nm

λ_{max}^{EtOH}（计算值）=222nm

例 3 计算下列化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



解： 基值 215nm

增加一个共轭双键 +30nm

同环二烯 +39nm

烷基（α 位 10×1） +10nm

（β 位 12×1） +12nm

（δ 位 18×1） +18nm

环外双键 +5nm

λ_{max}^{EtOH}（计算值）=329nm

实测值=327nm

例 4 某化合物分子式为 $C_7H_{10}O$，经 IR 光谱测定有 $>C{=}O$，$-CH_3$，$-CH_2-$ 及 $>C{=}C<$。UV 测定 $\lambda_{max}^{EtOH}=257nm$，试推测其结构。

解：

（1）因为 $\lambda_{max}^{EtOH}=257nm$，而且分子中有 $>C{=}O$，所以，一定是 α,β-不饱和酮类型的化合物。

（2）其骨架可能为环酮，也可能为非环酮。

（3）若为环酮，则可能的结构是：

（A） O } $-CH_3$　　C_7H_8O（分子式与给出条件不符）

（B） 6 O 5 4 } 4，5，6 位 $-CH_3$　　$C_7H_{10}O$　　λ_{max}^{EtOH}（计算值）$=227nm$

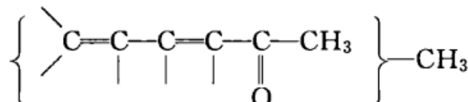
（C） O CH_3　　$C_7H_{10}O$　　λ_{max}^{EtOH}（计算值）$=237nm$

（D） O CH_3　　$C_7H_{10}O$　　λ_{max}^{EtOH}（计算值）$=239nm$

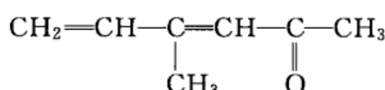
（E） O CH_2　　$C_7H_{10}O$　　λ_{max}^{EtOH}（计算值）$=230nm$

将上述各推测结构的分子式及 λ_{max}^{EtOH} 与化合物实测值进行对照，可知该化合物不可能是上述 A、B、C、D、E 各结构。即不可能是环酮类。

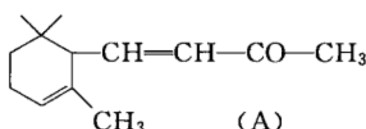
（4）若为非环酮类，则可能的结构是：

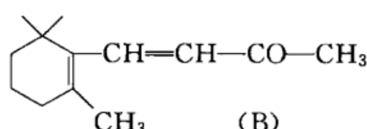


上述基本骨架的 λ_{max}^{EtOH} 是 245nm（基值为 215nm，增加一个共轭双键＋30）。骨架的 λ_{max} 与实测值 257nm 之间相差 12nm（257－245＝12），说明$-CH_3$ 可能连接在 β 位，因此，该化合物的可能结构为：



例 5 紫罗酮异构体的确定：用其他分析方法得知紫罗酮有两种异构体（结构如下），但不知结构中哪种为 α 异构体，哪种为 β 异构体，为解决这个问题，采用了 UV 光谱技术，具体方法是：先取 α 体及 β 体纯品，测得 UV 光谱，λ_{max}（α 体）＝228nm，λ_{max}（β 体）＝296nm。然后运用 α,β-不饱和酮 λ_{max} 的计算方法，求（A）及（B）两种结构的 λ_{max} 的计算值。





计算：

结构（A）	基值	215nm
	烷基（β）	＋12nm
		λ_{max}（计算）＝227nm
结构（B）	基值	215nm
	烷基（$\gamma\times1$）	＋18nm
	（$\delta\times2$）	＋36nm
	增加共轭双键（1）	＋30nm
		λ_{max}（计算）＝299nm

比较计算值与实测值可知：α 体的结构为（A），而 β 体的结构应为（B）。

三、芳香族化合物的紫外光谱

1. 苯及稠环母体的紫外光谱

苯具有三个吸收峰，都是由 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁引起的。其中 E_1 带是由苯环内乙烯键上的 π 电子被激发所致，吸收峰在 184nm 左右，吸收强度大（ε 10000）；E_2 带在 203nm 处，中等强度（ε 7400），是由苯环的共轭二烯所引起。B 带，是一宽带，并有若干小峰（称精细结构），吸收峰在 230～270nm，中心在 254nm（ε 204）。

稠环芳烃母体的吸收谱带 λ_{max} 大于苯，这是因为稠环芳烃具有两个或两个以上共轭的苯环，引起 $\pi\rightarrow\pi^*$ 跃迁所需能量较小，所以在较长的波长处吸收。而且苯环数目越多，λ_{max} 值就越大（见图 1-11）。

2. 苯的一取代物的紫外光谱

苯被取代后，其 E_2 或 K 带和 B 带吸收峰都会发生变化，取代基类型不同，对 λ_{max} 的影响也不同。

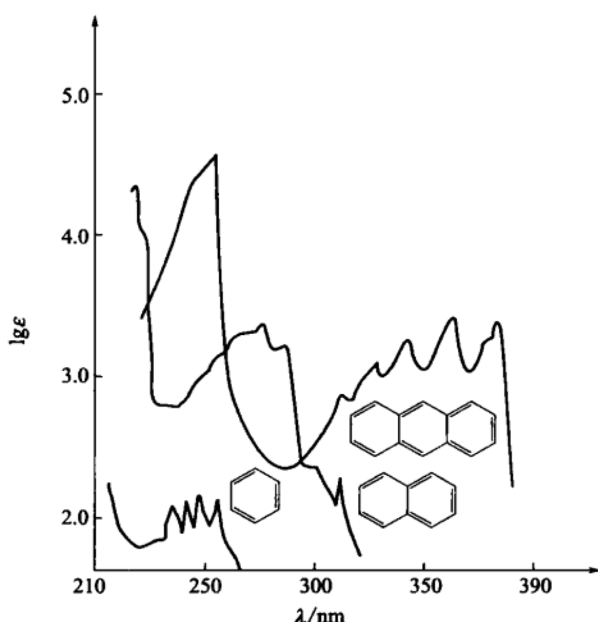
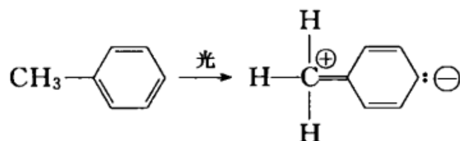


图 1-11　乙醇中苯、萘、蒽的紫外吸收光谱

（1）烷基取代

烷基在苯环上的取代使谱带向红移，主要是 B 带红移，对 E 带影响不大，这是由于烷基 C—H 的 σ 键与苯环产生超共轭作用所致。



（2）带孤对电子的基团（$-\ddot{N}H_2$、$-\ddot{O}H$、$-\ddot{O}R$）取代

由于孤对电子与苯环可以产生 p-π 共轭，故而 λ_{max} 向红位移。

（3）可与苯环共轭的不饱和基团

例如，—CH═CH—、$\rangle$C═O 、$-NO_2$ 等，由于 π-π 共轭结果产生新的分子轨道而降低跃迁能，使 λ_{max} 显著向红位移。

不同取代基使苯的 203nm 吸收峰波长增加的次序如下。

邻、对位定位基：$N(CH_3)_2 > NHCOCH_3 > O^- > NH_2 > OCH_3 > OH > Br > Cl > CH_3$

间位定位基：$NO_2 > CHO > COCH_3 > COOH > SO_2NH_2 > NH_3^+$

显然，对光谱影响的大小与取代基的吸电子和推电子程度有关。常见的苯—

取代物的 λ_{max}（溶剂：甲醇或水）如表 1-8 所示（Ph—R）。

表 1-8 常见的苯一取代物的 λ_{max}

取代基(R)	λ_{max}/nm(ε)	
	E_2 或 K 带	B 带
—H	203(7400)	254(204)
$—NH_3^+$	203(7500)	254(160)
—Me	206(7000)	261(225)
—I	207(7000)	257(700)
—Cl	209(7400)	263(190)
—Br	210(7900)	261(192)
—OH	210(6200)	270(1450)
—OMe	217(6400)	269(1480)
$—SO_2NH_2$	217(9700)	264(740)
—CN	224(13000)	271(1000)
$—COO^-$	224(8700)	268(560)
—COOH	230(11600)	273(970)
$—NH_2$	230(8600)	280(1430)
$—O^-$	235(9400)	287(2600)
—NHAc	238(10500)	
—COMe	245(9800)	
$—CH═CH_2$	248(14000)	282(750),291(500)
—CHO	249(11400)	
—Ph	251(18300)	
—OPh	255(11000)	272(2000),278(1800)
$—NO_2$	268(7800)	
—CH═CHCOOH	273(21000)	
—CH═CHPh	295(29000)	

3. 苯的多取代物紫外光谱

Scott 规则适合于计算苯的某些多取代物的 K 带（E_2 带）λ_{max}^{EtOH}，计算方法如表 1-9 所示。

表 1-9 R′—C₆H₄—R 的 K 带 λ_{max}^{EtOH}

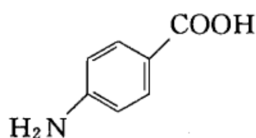
基值 R=—CO 烷基	246nm
—CO—环	246nm
—CHO	250nm
—COOH	230nm
—COO 烷基	230nm
—COO—环	230nm
—CN	224nm

续表

增加值(因加入其他取代基 R′引起)		
R′=—烷基或环基	邻-、间-	3nm
	对-	10nm
—OH,—OR	邻-、间-	7nm
	对-	25nm
$—O^-$	邻-	11nm
	间-	20nm
	对-	78nm
—Cl	邻-、间-	0nm
	对-	10nm
—Br	邻-、间-	2nm
	对-	15nm
$—NH_2$	邻-、间-	13nm
	对-	58nm
—NHAc	邻-、间-	20nm
	对-	45nm
—NHMe	对-	73nm
$—NMe_2$	邻-、间-	20nm
	对-	85nm

计算实例如下。

例 1 计算下述化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



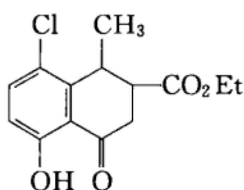
解: 基值 230nm

对位$—NH_2$ +58nm

λ_{max}^{EtOH} (计算值)=288nm

实测值=288nm

例 2 计算下述化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



解: 基值 246nm

邻烷基 +3nm

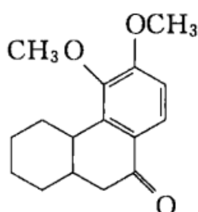
邻—OH +7nm

间—Cl 0

λ_{max}^{EtOH} (计算值)=256nm

实测值=257nm

例 3 计算下述化合物的 λ_{max}^{EtOH}。



解：基值 246nm

邻烷基 +3nm

m-OCH_3 +7nm

p-OCH_3 +25nm

λ_{max}^{EtOH}（计算值）＝281nm

实测值＝278nm

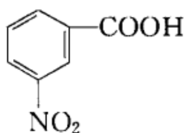
在二取代苯中，由于取代基的性质和取代位置不同，产生的影响也不同。虽然不是所有取代物的 λ_{max} 都可以计算，但以下规律还是有用的。

（1）当一个吸电子基（如—NO_2、—CHO 等）与一个供电子基（如—OH、—OCH_3、—X 等）相互处于（在苯环中）对位时，由于两个取代基效应相反，产生协同作用，λ_{max} 产生显著的向红位移。效应相反的两个取代基若相互处于间位或邻位时，则二取代物的光谱与各单取代物的区别很小，例如：

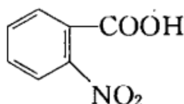
化合物	吸收
—NO_2	260nm（ε 7800）
—NH_2	280nm（ε 1430）
O_2N—, —NO_2	380nm（ε 13500）
—NH_2, NO_2	280nm（ε 4800）
—NH_2, NO_2	282.5nm（ε 5400）

（2）当两个吸电子基或两个供电子基取代时，由于效应相同，两个基团不能协同，则吸收峰往往不超过单取代时的波长，且邻、间、对三个异构体的波长也相近。例如：

化合物	吸收
—COOH	230nm（ε 11600）
—NO_2	260nm（ε 7800）
O_2N—, —COOH	258nm（ε 11000）



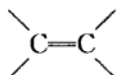
255nm（ε 7600）



255nm（ε 3470）

4. 芳杂环化合物的紫外光谱

(1) 五元芳杂环化合物的紫外光谱

呋喃、噻吩和吡咯是含有一个杂原子的五元环状化合物。它们都有两个  键和杂原子上的孤对电子，因此既有 $\pi \to \pi^*$ 跃迁引起的吸收谱带，又有 $n \to \pi^*$ 跃迁引起的吸收谱带。其 UV 光谱与环戊二烯相似，即在 200nm 及 238nm 附近有两个吸收峰。200nm 峰可能属 K 带，238nm 峰类似苯环的 B 带。

常见的五元芳杂环化合物的 UV 光谱如表 1-10 所示。

表 1-10　常见的五元芳杂环化合物的 UV 光谱

化合物	峰带Ⅰ		峰带Ⅱ		溶剂
	λ_{max}/nm	ε_{max}	λ_{max}/nm	ε_{max}	
环戊二烯	200	10000	238.5	3400	己烷
呋喃	200	10000	252	1①	环己烷
吡咯	211	15000	240	300①	己烷
噻吩	231	7100	269.5	1.5①	己烷

① 这些弱峰也可能是由于杂质所引起的。

(2) 六元芳杂环化合物的紫外光谱

吡啶分子结构中的 N 原子上有孤对电子，因而也有 $\pi \to \pi^*$ 和 $n \to \pi^*$ 跃迁，其紫外吸收光谱与苯的相似。例如，吡啶的 257nm（lgε 3.43）吸收峰与苯的 B 带相似，也分成几个小峰（精细结构）。溶剂的极性对苯吸收峰的强度和位置影响很小，却可使吡啶的 B 带吸收强度明显增高，这可能是由于吡啶氮原子上的孤对电子与极性溶剂形成氢键的缘故。

稠芳杂环化合物的 UV 光谱多与相应的稠芳环化合物相近。例如，喹啉的 UV 光谱与萘相似。

喹啉	λ_{max}/nm	228	270	315
萘	λ_{max}/nm	221	286	312

第三节 紫外光谱在结构分析中的应用

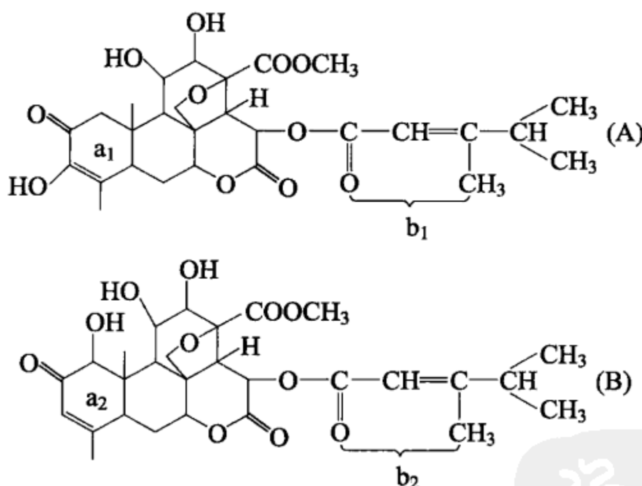
紫外光谱主要提供有关化合物共轭体系及某些官能团存在的信息。在利用四谱进行有机物结构分析时，紫外分光光度计是四大谱仪器中最价廉，也是最普及的仪器，加之紫外分析方便快捷，因此，如果利用紫外数据能解决的结构问题，通常总是首先利用紫外光谱进行分析。具体方法如下。

一、确定未知物的结构骨架

1. 将λ_{max}的计算值与实测值进行比较

当用其他物理和化学方法判断某化合物的结构为（A）或（B）时，则可分别计算出（A）和（B）的λ_{max}（nm），再与实测值进行对照。

例如：从鸦胆子属植物中提取得到一种苦木内酯化合物，经其他方法测得它的结构可能为（A）或（B）。其 UV 光谱λ_{max}^{EtOH}为 221nm，280nm，$\lambda_{max}^{EtOH+NaOH}$为 211nm，328nm。试问，其结构应为何者？



解：在结构（A）及（B）中，均有两个生色骨架：a_1 及 a_2 为 α,β-六元不饱和酮类结构，b_1 及 b_2 为 α,β-不饱和酯类。根据两个化合物的生色骨架计算其λ_{max}^{EtOH}如下。

结构（A），a_1 骨架

α,β-不饱和酮基值	215nm
α-OH（×1）	+35nm
β-烷基（×2）	+24nm

计算值 λ_{max}^{EtOH} =274nm

与实测值 280nm 相近

b_1 骨架

α,β-不饱和酮基值	193nm
β-烷基（×2）	+24nm

计算值 λ_{max}^{EtOH}=217nm

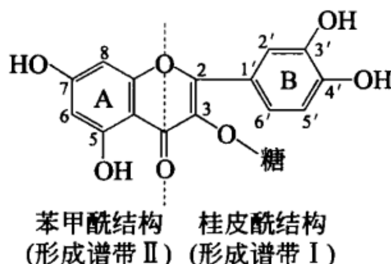
与实测值 221nm 相近

同样计算结构（B)，其 a_2 骨架 λ_{max}^{EtOH}（计算值）为 239nm，b_2 骨架为 217nm。

由以上计算可知：与紫外光谱实测结果相符合的结构应为（A)。当加入 NaOH 测定时（λ_{max}^{EtOH}），a_1 骨架上的烯醇羟基离解，故该峰（280nm）向红移至 328nm。(B）结构与实测结果不符：a_2 为 239nm（计算），与实测值 280nm 相差太大，且在 NaOH 中测定时，不会红移。由此可判定该化合物结构应为（A)。

2. 与同类型的已知化合物 UV 光谱进行比较

结构复杂的有机物，尤其是天然有机化合物，难以精确地计算出 λ_{max}，故在结构分析时，经常将检品的紫外光谱与同类型的已知化合物进行比较。根据该类型化合物的结构——紫外光谱变化规律做出适宜的判断。同类型化合物的紫外光谱既有共性，又有个性。其共性可作为化合物类型的鉴定，个性可作为具体化合物具体结构的判断。例如，黄酮类化合物具有两个较强的吸收带：300～380nm（谱带Ⅰ)；240～280nm（谱带Ⅱ），这是黄酮类化合物的共性。但具体化合物又因结构的不同，其紫外光谱也各不相同。如芦丁的 UV 光谱谱带Ⅰ与 B 环的桂皮酰基结构有关，而谱带Ⅱ则与 A 环的苯甲酰基结构有关。



苯甲酰结构（形成谱带Ⅱ）　桂皮酰结构（形成谱带Ⅰ）

芦丁的甲醇溶液及加入各种鉴定试剂后的紫外光谱如下（表 1-11)。

表 1-11　芦丁的甲醇溶液及加入各种鉴定试剂后的紫外光谱

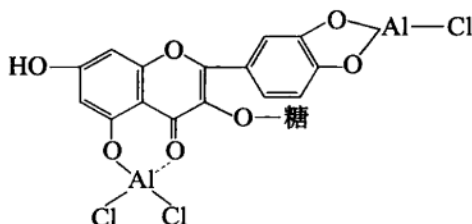
试　剂	λ_{max}/nm	
	谱带Ⅱ	谱带Ⅰ
甲醇	259	359
甲醇钠	272	410
三氯化铝	275	433
醋酸钠	271	393

以上芦丁的 UV 光谱变化可做如下解释。



① 甲醇钠是强碱，可以使所有的酚羟基离解，使吸收带向红位移。芦丁由于 B 环 3′、4′两个酚羟基的离解使谱带Ⅰ向红位移 51nm（与 λ_{max}^{MeOH} 比较）；A 环上 5、7 两个羟基的离解使谱带Ⅱ也向红位移。

② $AlCl_3$ 可与 B 环的邻二酚羟基以及 A 和 C 环的 OH O 结构形成配合物（结构如下），故分别引起带Ⅰ及带Ⅱ的向红位移。这说明，比较黄酮类化合物的甲醇溶液加 $AlCl_3$ 试剂前后测得的紫外光谱，对判断结构中是否具有邻二酚羟基及 OH O 等结构是有用的。



③ 醋酸钠为弱碱，仅能使酸性较强的 7-OH 及 4′-OH 离解。因此加入该试剂后，谱带Ⅰ红移，说明 B 环上有 4′-OH，谱带Ⅱ红移说明 7-OH 存在。

由此可知，紫外光谱还有助于阐明在共轭体系中取代基的位置、种类和数目。

3. 分析紫外光谱的几个经验规律

① 在波长 220～800nm（紫外-可见分光光度计）范围内无吸收的化合物可能是脂肪烃、脂环烃及其简单衍生物如卤化物、醇、醚、羧酸等，也可能是非共轭的烯烃。

② 220～250nm 内有强吸收（ε 近 10000 或更大），表明是 K 带吸收，即存在两个共轭的不饱和键如共轭二烯、α,β-不饱和醛（酮）。

③ 250～290nm 内显示中等强度吸收，且常见有不同程度的精细结构，说明有苯环存在。

④ 250～350nm 内显示中或低强度吸收，说明有羰基或共轭羰基存在。

⑤ 300nm 以上的高强度吸收，说明有较大的共轭体系；若高强度吸收有明显的精细结构，说明稠环芳烃、稠杂环芳烃或其衍生物存在。

需要注意的是：由于紫外光谱是特定结构的价电子跃迁产生的吸收光谱，只要结构单位相同，无论是简单或复杂化合物，它们的图谱就十分相近，很难区分，所以紫外光谱一般仅适用于测定化合物结构的类别。

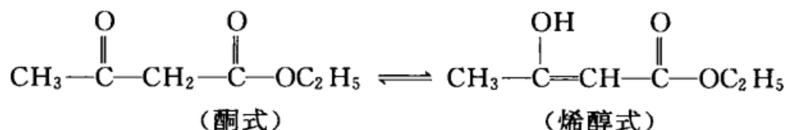
二、确定构型

有机分子的构型不同，其紫外光谱的 λ_{max} 及 ε_{max} 也不同。通常反式异构体的

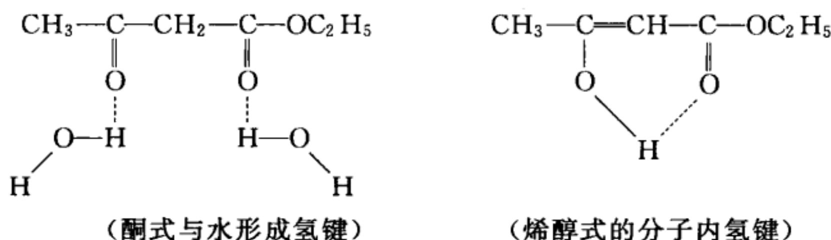
λ_{max}及ε_{max}值较相应的顺式异构体为大。

三、测定互变异构现象

紫外光谱还可以测定某些化合物的互变异构现象。例如，乙酰乙酸乙酯存在下述互变异构现象：

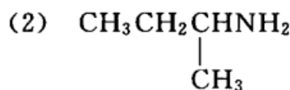


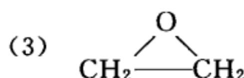
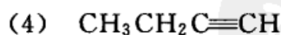
在极性溶剂中测定时，出现一个弱峰，λ_{max} 272nm（ε=16），说明该峰系由$n\rightarrow\pi^*$跃迁引起，故可确定在极性溶剂中该化合物主要是以酮式异构体的形式存在。这是由于酮式可与极性溶剂（如水）形成氢键，因而稳定。在非极性溶剂中测定时，形成$\lambda_{max}^{己烷}$ 243nm强峰，表明此时主要为烯醇式。由于烯醇式在非极性溶剂中可形成分子内氢键，而获得稳定性。

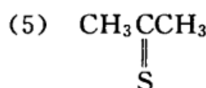


习　　题

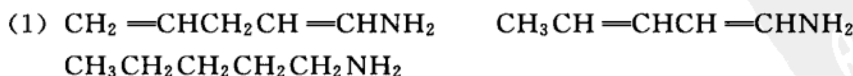
1. 指出下列每种化合物的最低能量跃迁是什么？

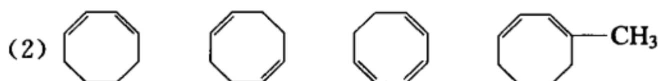
(1) 　(2) 

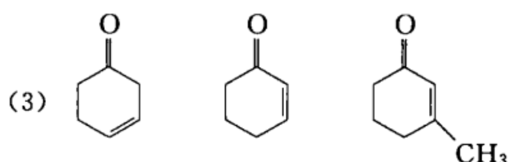
(3) 　(4) 

(5) 　(6) 

2. 按紫外吸收波长由长到短的顺序排列下列各组化合物：

(1) 

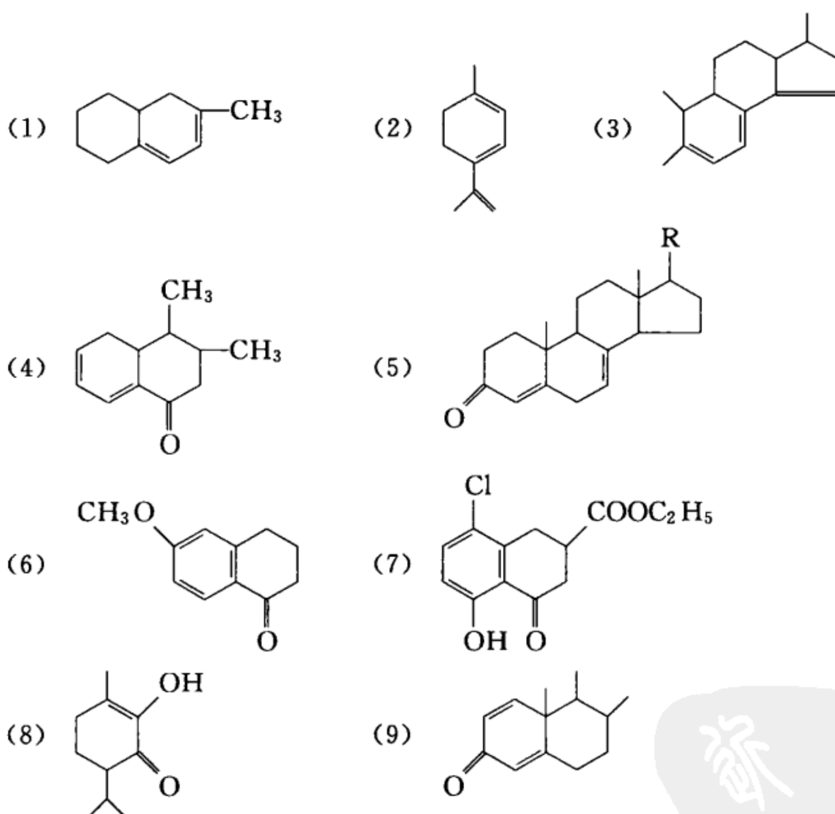
(2) 

(3) 

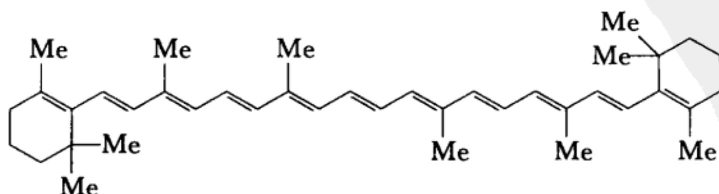
3. 乙酰丙酮以水为溶剂时测得其紫外吸收带 λ_{max} 274nm（ε 1500）；以己烷为溶剂测得结果是 λ_{max} 271nm（ε 1.2×10^4）。试解释这一现象。

4. 某化合物的 $\lambda_{max}^{EtOH}=287nm$，$\lambda_{max}^{二氧六环}=295nm$。试问，引起该吸收的跃迁类型为何？

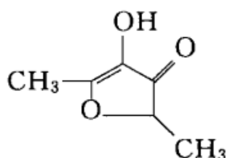
5. 计算下列化合物的 $\lambda_{max}^{己烷}$ 或 λ_{max}^{EtOH}（8、9）。



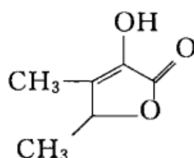
6. 试计算全反式 β-胡萝卜烯的 λ_{max} 及 ε_{max}（实测值：$\lambda_{max}=452nm$，$\varepsilon_{max}=15.2\times10^4$）。



7. 根据 IR 及 NMR 推定某一化合物的结构可能为（A）或（B）。其 UV 光谱为 λ_{max}^{MeOH} 291nm（ε 9700），试问结构为何？



(A)

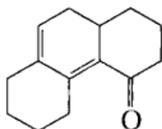


(B)

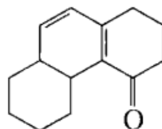
8. 某一化合物，为一环己烯酮的衍生物，$\lambda_{max}^{EtOH}=235$nm，假如共轭体系中连接有烷基（R），试问生色体系的可能结构是什么？指出烷基的取代位置。

9. 已知 C_6H_5—C(=O)—CH_3 的 UV λ_{max}/nm（ε）：315（55）、279（1200）、243（13000），试说明各属何类吸收带？由哪类跃迁引起？与分子中哪部分结构有关？

10. 一化合物初步推断其结构可能是 A 或 B，经测定紫外光谱 $\lambda_{max}^{EtOH}=$ 352nm。试问该化合物的结构为何？

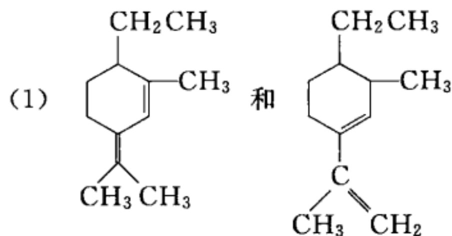


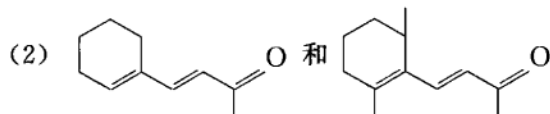
(A)

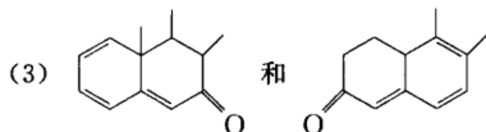


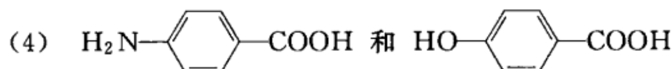
(B)

11. 用紫外光谱能否鉴别下列化合物？请说明理由。









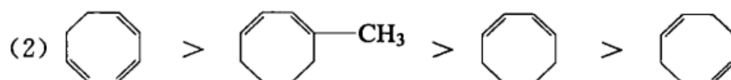
参考答案

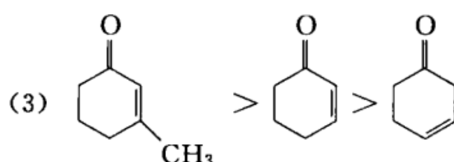
1. (1) $\pi\rightarrow\pi^*$　　(2) $n\rightarrow\sigma^*$　　(3) $n\rightarrow\sigma^*$

   (4) $\pi\rightarrow\pi^*$　　(5) $n\rightarrow\pi^*$　　(6) $n\rightarrow\sigma^*$

2. (1) $CH_3CH{=}CHCH{=}CHNH_2 > CH_2{=}CHCH_2CH{=}CHNH_2$

   $> CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$

(2) 

(3) 

3. 溶剂极性增强使 α,β-不饱和羰基化合物的 K 带红移。

4. (EtOH 的极性大于二氧六环) $n\rightarrow\pi^*$。

5. (1)

基值	217nm
烷基 (5×4)	+20nm
环外双键 (1)	+5nm
环内双烯	+36nm
	$\lambda_{max}^{己烷}$=278nm

(2)

基值	217nm
烷基 (5×4)	+20nm
共轭双键 (增 1)	+30nm
同环二烯	+36nm
	$\lambda_{max}^{己烷}$=303nm

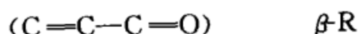
(3)

基值	217nm
烷基 (5×5)	+25nm
共轭双键 (增 1)	+30nm
同环二烯	+36nm
环外双键 (5×2)	+10nm
	$\lambda_{max}^{己烷}$=318nm

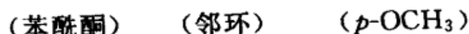
(4)

215nm	+ 30nm	+ 10nm	+ 18nm	+ 39nm	+ 5nm	=317nm
(C=C—C=O)	共轭双键 (增 1)	α-R	δ-R	环内双烯	环外双键	

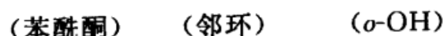
(5) 215nm + (12×2)nm=239nm


(C═C—C═O) β-R

(6) 246nm + 3nm + 25nm=274nm


(苯酰酮) (邻环) (p-OCH_3)

(7) 246nm + 3nm + 7nm=256nm


(苯酰酮) (邻环) (o-OH)

(8) 基值 215nm

α 位羟基取代 +35nm

β 位烷基 +2×12nm

$\lambda_{max}^{EtOH}=274nm$

(9) 基值 215nm

β 位烷基取代 +2×12nm

环外双键 +5nm

$\lambda_{max}^{EtOH}=244nm$

6. $\lambda_{max}=114+5M+n(48-1.7n)-16.5R_{endo}-10R_{exo}$

$=114+5\times10+11\times(48-1.7\times11)-16.5\times2-10\times0$

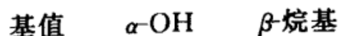
$=453.3$ (nm)

$\varepsilon_{max}=1.74\times10^4\times11=1.91\times10^5$

7. (A) $\lambda_{max}^{MeOH}=215 + 35 + 12 + 30=292nm$

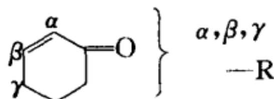

基值 α-OH β-CH_3 β-OR

(B) $\lambda_{max}^{MeOH}=193 + 35 + 12\times2=252nm$


基值 α-OH β-烷基

所以结构为(A)。

8. 发色体系的可能结构是

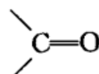


—R 在 β 位时，$\lambda_{max}^{EtOH}=215+2\times12=239$ (nm)

—R 在 α 位时，$\lambda_{max}^{EtOH}=215+10+12=237$ (nm)

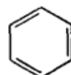
所以烷基的取代位置在 α 位。

9. 315(55) R 带 $n\rightarrow\pi^*$



279(1200) B 带 $\pi\rightarrow\pi^*$ 共轭双键体系

243(13000) K 带 $\pi\rightarrow\pi^*$



10. （A）λ_{max}^{EtOH} = 215 + 30 + 10 + 12 + 18

基值　增1共轭双键　α-R　β-R　γ-R

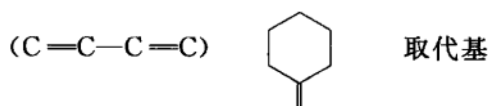
+ 18 + 39 + 10 = 352（nm）

δ-R　同环双烯　环外双键（2）

（B）λ_{max}^{EtOH} = 215 + 30 + 10 + 12 + 18 + 39 = 324（nm）

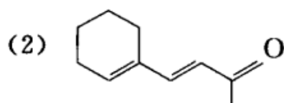
所以该化合物为（A）。

11. （1）λ_{max}（计算值）= 217 + 5 + (5×5) = 247（nm）

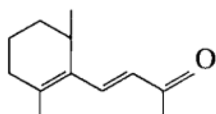


λ_{max}（计算值）= 217 + (5×3) = 232（nm）

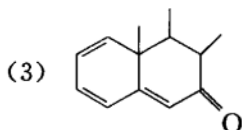
(C=C—C=C)　取代基

（2）


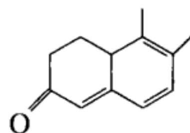
λ_{max}（计算值）= 215 + 30 + 18 + 18 = 281（nm）



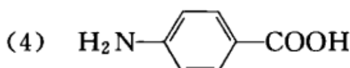
λ_{max}（计算值）= 215 + 30 + 18 + 2×18 = 299（nm）

（3）


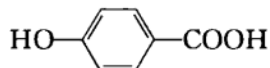
λ_{max} = 215 + 2×30 + 12 + 18 + 5 + 39 = 349（nm）



λ_{max} = 215 + 2×30 + 12 + 18×3 + 5 + 39 = 385（nm）

（4）


λ_{max} = 230 + 58 = 288（nm）



λ_{max} = 230 + 25 = 255（nm）

第二章　红外光谱

第一节　基础知识

一、红外光谱区划分

波长大于0.76μm，小于500μm（或1000μm）的电磁波，称为红外线。按红外线的波长不同，将红外线分为三个区域，详见表2-1。

表2-1　红外光谱区划分

区　　域	波长 $\lambda/\mu m$	波数 ν/cm^{-1}	能级跃迁类型
近红外区(泛频区)	0.76～2.5	13158～4000	OH、NH及CH键的倍频吸收区
中红外区(基本振动区)	2.5～50	4000～200	振动，伴随着转动
远红外区(转动区)	50～500(或1000)	200～20(或10)	转动

由分子的振动-转动能级跃迁引起的光谱称为中红外光谱（mid infrared absorption spectrum），简称红外光谱（IR）。它是目前人们研究最多的区域，也是最有实际用途的区域，因此本章主要介绍这方面的内容。

二、红外光谱的表示方法

红外光谱多用透光率与波数（T-$\bar{\nu}$）或透光率与波长（T-λ）曲线描述。T-$\bar{\nu}$或T-λ曲线上的“谷”是光谱吸收峰，两种吸收曲线的形状略有差异。纵坐标为透光率，以T表示；横坐标为波长（μm）或波数（cm^{-1}），但以一种为主，目前的红外光谱都采用波数等距。为了防止吸收曲线在高波数（短波长）区过分扩张，一般用两种比例尺，多以2000cm^{-1}（5μm）为界。光谱上的虚线（3000cm^{-1}）是饱和氢和不饱和氢的分界线。图2-1是苯酚的红外光谱。

在红外光谱中，波长的单位用微米（μm），波数的单位用cm^{-1}，二者的关系是：

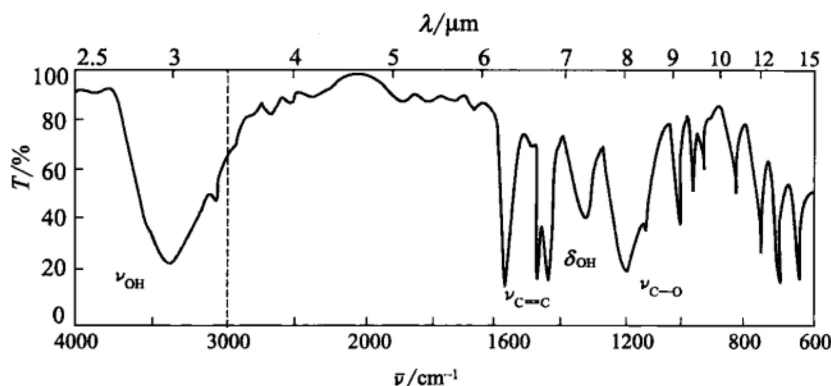


图 2-1 苯酚的红外光谱（T-$\bar{\nu}$ 曲线）

$$\bar{\nu}(\mathrm{cm}^{-1})=\frac{10^4}{\lambda(\mu\mathrm{m})} \tag{2-1}$$

三、红外光谱产生的条件

分子在常态下处于基态的最低振动能级，当分子吸收红外线后，就发生振动能级跃迁，即由基态最低振动能级跃迁到基态的较高的振动能级，跃迁所需要的能量就是两个能级的能量差。分子的振动能级差为 0.05～1.5eV，大于转动能级差（0.001～0.025eV）。因此，在分子发生振动能级跃迁时，不可避免地伴随着转动能级跃迁，而无法测得纯振动光谱。

用红外线照射分子能引起振动能级的跃迁，产生振动光谱，要有一定的条件。

① 辐射应具有刚好能满足物质分子能级跃迁所需的能量，即物质的分子中某个基团的振动频率等于红外线的频率。或者说当用红外线照射分子时，如果红外光子的能量等于分子振动能级跃迁时所需的能量，则可以被分子吸收，这是红外光谱产生的必要条件。

② 辐射与物质之间有偶合作用，即物质分子在振动过程中有偶极矩变化（$\Delta\mu\neq0$），这是红外光谱产生的充分必要条件。

分子振动能否引起偶极矩变化，分两种情况：对称分子由于其正负电荷中心重叠，故分子中原子的振动并不引起偶极矩的变化；如 O_2、N_2、H_2 等双原子分子，不能吸收红外辐射。非对称分子由于其正负电荷中心不重叠，故分子中原子的振动能引起偶极矩的变化；如 CO、NO、HCl 等分子电荷分布不均匀，能产生红外吸收。物质吸收辐射实质上是外界辐射转移它的能量到分子中去，而这种能量的转移是通过偶极矩的变化来实现的。

第二节 基本原理

一、分子中化学键的振动频率

分子的振动实质上是化学键的振动。分子中各化学键的振动频率取决于化学键及原子的性质，也受整个分子的影响，下面以双原子分子 HCl 为例加以讨论。

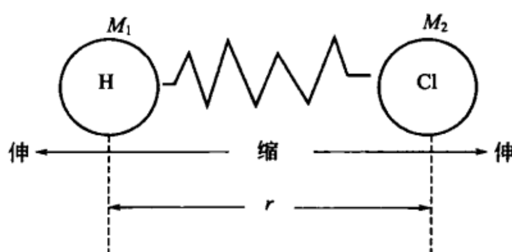


图 2-2 谐振子振动示意图

分子中的原子以平衡点为中心，以非常小的振幅（与原子核之间距离相比）作周期性的振动。这种分子振动的模型可以近似地当作谐振子模型来处理。我们把两个原子看成是刚体小球，如图 2-2 所示。M_1、M_2 分别代表两个原子的原子量，弹簧的长度 r 是键长。根据这样的模型，双原子分子振动方式就是在两个原子的键轴方向上做简谐振动，这个体系的振动频率 ν，用经典力学的胡克定律可以导出如下公式：

$$\nu=\frac{N^{\frac{1}{2}}}{2\pi}\sqrt{\frac{K}{M_{\mu}}} \tag{2-2}$$

其中，N 为阿伏加德罗常数；π 为圆周率；K 为化学键力常数，它是键强度的定量表示，键强度取决于键能的高低和键长的长短，键能越高，键长越短，键强度越大，K 值也就越大；M_{μ} 是折合原子量。

$$M_{\mu}=\frac{M_1 M_2}{M_1+M_2} \tag{2-3}$$

若用波数 $\bar{\nu}$ 代替频率 ν，则式(2-2) 可改为

$$\bar{\nu}=\frac{N^{\frac{1}{2}}}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{M_{\mu}}} \tag{2-4}$$

式中，c 为光速。

若将各常数值代入式(2-4) 中，则振动频率为

$$\nu=4.12\sqrt{\frac{K}{M_{\mu}}} \quad (K\text{ 的单位为 dyn/cm}) \tag{2-5}$$

从式(2-5) 可总结出两点。第一，由原子量和键力常数就可以从理论上求出振动频率，即红外吸收峰的峰位。第二，分子的振动频率取决于化学键的强度（化学键力常数）和原子量，化学键越强（化学键力常数越大），原子量越小，振

动频率就越高。

用式(2-5)计算 HCl 的振动频率 $\bar{\nu}=2990\text{cm}^{-1}$，红外光谱实测值 $\bar{\nu}=2886\text{cm}^{-1}$，两者基本一致。有些偏差的原因是 HCl 毕竟不是一个简单的谐振子。

由于各个有机化合物的结构不同，化学键两端连接的原子基团不同，它们的原子量和化学键强度不同，化学键力常数不同，就会出现不同的峰位频率，因此各有其特征的红外吸收光谱。

二、分子振动形式

双原子分子的振动是最简单的，它只有一类伸缩振动，而多原子分子有伸缩振动和弯曲振动两类振动形式。讨论振动形式可以了解吸收峰的起源，知道振动形式的数目有助于了解基频峰的可能数目。

1. 伸缩振动

原子沿着键轴方向伸缩，使键长发生变化的振动，称为伸缩振动（ν）。多原子分子（或基团）的每个化学键可以近似地看作一个谐振子，其振动形式可分为两种：对称伸缩振动（ν_s 或 ν^s），即振动时各键同时伸长或缩短；不对称伸缩振动（ν_{as}或 ν^{as}），即振动时某些键伸长，另外的键则缩短。

2. 弯曲振动

使键角发生周期性变化的振动称为弯曲振动或变形振动，可分为面内、面外、对称及不对称弯曲振动等形式。

（1）面内弯曲振动（δ）

弯曲振动在由几个原子构成的平面内进行，称为面内弯曲振动。按振动形式，面内弯曲振动又可分为两种：一是剪式振动，在振动过程中键角的变化，类似剪刀的开和闭；二是面内摇摆振动，基团作为一个整体，在平面内摇摆。

（2）面外弯曲振动（γ）

弯曲振动在垂直于由几个原子所组成的平面外进行，也分为两种：面外摇摆振动，即两个原子同时向面上或向面下的振动；扭曲振动，即一个原子向面上，另一个原子向面下的振动。

（3）对称与不对称弯曲振动（δ^s 与 δ^{as}）

分子如 AX_3 的弯曲振动还有对称和不对称之分，对称弯曲振动中，三个 AX 键与轴线组成的夹角对称地缩小或增大，形如花瓣的开和闭；不对称弯曲振动中，两个夹角缩小，另一个增大，或相反。

CH_2 的伸缩振动和弯曲振动见表 2-2，CH_3 的对称和不对称弯曲振动见表2-3。

表 2-2　CH_2 的伸缩振动和弯曲振动

	对称(ν^s)	不对称(ν^{as})
伸缩振动	H H C 约 $2850cm^{-1}$	H H C 约 $2925cm^{-1}$
	面内(δ)	面外(γ)
弯曲振动	剪式 H H C $(1465\pm20)cm^{-1}$	摇摆 $H^{\oplus}$ $H^{\oplus}$ C 约 $1300cm^{-1}$
	摇摆 H H C 约 $720cm^{-1}-(CH_2)_n$　$n\geqslant4$	扭曲 $H^{\oplus}$ $H^{\ominus}$ C 约 $1250cm^{-1}$

表 2-3　CH_3 的对称和不对称弯曲振动

对称(δ^s)	不对称(δ^{as})
H^- H H C 约 $1375cm^{-1}$	H^- H H C 约 $1460cm^{-1}$

三、基频峰与泛频峰

在红外光谱中，从吸收峰的频率与基团的振动频率之间的关系，可分为基频峰与泛频峰。

(1) 基频峰

分子吸收一定频率的红外线。若振动能级由基态（$V=0$）跃迁到第一振动激发态（$V=1$）时，所产生的吸收峰称为基频峰。由于 $\Delta V=1$，基频峰的强度一般都较大，因而基频峰是红外光谱上最主要的一类吸收峰。

(2) 泛频峰

在红外光谱上除基频峰外，振动能级由基态（$V=0$）跃迁至第二（$V=2$）、第三（$V=3$）……振动激发态所产生的吸收峰称为倍频峰。由 $V=0$ 跃迁至 $V=2$ 时，所产生的吸收峰称为二倍频峰。由 $V=0$ 跃迁至 $V=3$ 时，所产生的吸收峰称为三倍频峰。其他类推。二倍及三倍频峰等统称为倍频峰。其中二倍频峰还可以观察

到，三倍频峰及其以上的，因跃迁概率很小，一般都很弱，常观测不到。

除倍频峰外，尚有合频峰 $\nu_1+\nu_2$，$2\nu_1+\nu_2$，…；差频峰 $\nu_1-\nu_2$，$2\nu_1-\nu_2$，……。倍频峰、合频峰及差频峰统称为泛频峰。合频峰和差频峰多数为弱峰，一般在图谱上不易辨认。

取代苯的泛频峰出现在 2000～1667cm^{-1}区间，主要是由苯环上碳氢面外弯曲的倍频峰等所构成，特征性很强，可用于鉴别苯环上的取代基位置。它的峰形与取代基位置有关系。泛频峰的存在，使光谱变得复杂，但增加了光谱的特征性。

四、吸收峰的强度

吸收峰的强度是讨论影响吸收峰相对强度或摩尔吸收系数的因素，而不是讨论浓度与吸收度间的关系，因为在红外光谱中浓度与吸收度的关系也服从比尔定律。

现以乙酸丙烯酯的红外光谱（图 2-3）为例进行讨论。图 2-3 中③号峰与④号峰的位置很近，是因为 C═O、C═C 中碳原子量与氧原子量相差不大，而且都是双键连接的缘故。但谱带强度却相差悬殊，这是由振动能级跃迁概率决定的。

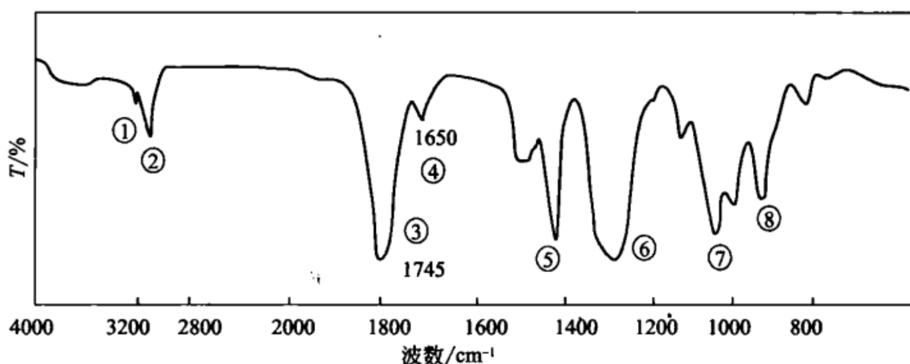


图 2-3　乙酸丙烯酯的红外光谱

①3080cm^{-1}；②2960cm^{-1}；③1745cm^{-1}（$\nu_{C=O}$）；④1650cm^{-1}（$\nu_{C=C}$）；
⑤1378cm^{-1}；⑥1240cm^{-1}；⑦1032cm^{-1}；⑧931cm^{-1}

基态分子中的很少一部分吸收某种频率的红外线，产生振动能级的跃迁而处于激发态。激发态分子通过与周围基态分子的碰撞，损失能量而回到基态，它们之间形成动态平衡。跃迁过程中激发态分子占总分子数的百分比称为跃迁概率，谱带的强度即是跃迁概率的量度。

在一定条件下，一个化合物的各基团的各种振动能级的跃迁概率恒定，因此可测得一条谱带强度相对稳定的吸收曲线。

乙酸丙烯酯的红外光谱中 $\nu_{C=O}$ 峰的强度大于 $\nu_{C=C}$ 峰，是因为 C═O 键和 C═C键伸缩振动时，前者引起的偶极矩变化大的原因。在不考虑相邻基团的相互抵消前提下，键的极性越大，伸缩振动过程中偶极矩变化越大。分子的偶极矩

还与分子结构有关：对称性越强，偶极矩越小。完全对称，偶极矩为零。由三氯乙烯与四氯乙烯的红外光谱（图 2-4）的对比可以说明，前者结构不对称，分子的偶极矩不等于零，有 $\nu_{C=C}$ 峰，后者的结构完全对称，则 $\nu_{C=C}$ 峰消失。

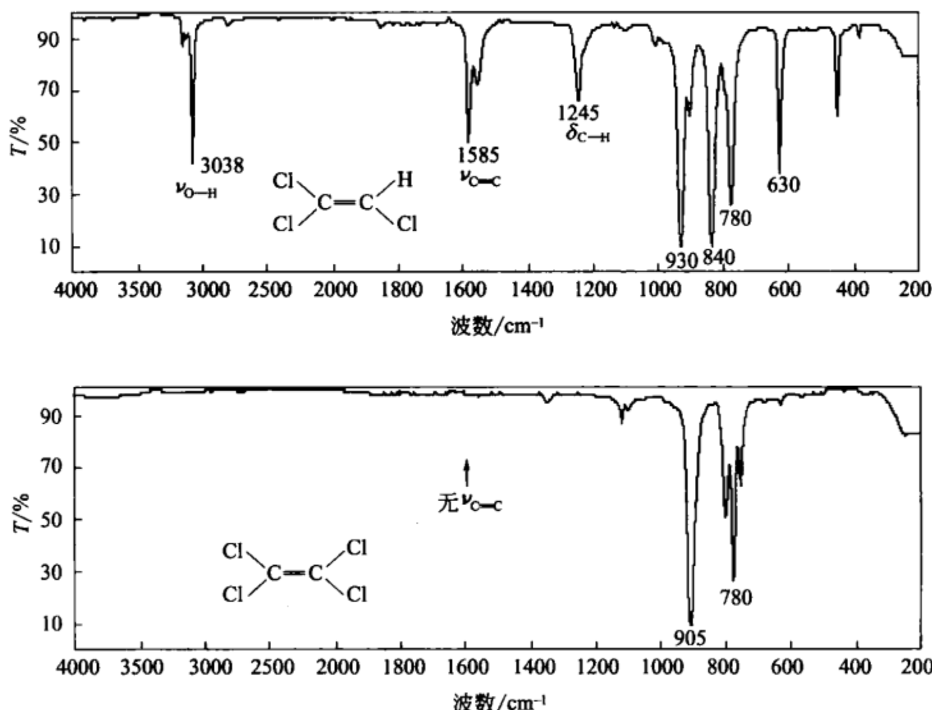


图 2-4　三氯乙烯与四氯乙烯的红外光谱

红外光谱中吸收峰的高、低表示其相对强度，而谱带的绝对强度需用摩尔吸收系数（ε）来描述。根据 ε 的值将红外吸收光谱的谱带强度划分为五级：$\varepsilon>100$ 为非常强谱带（vs）；$100>\varepsilon>20$ 为强谱带（s）；$20>\varepsilon>10$ 为中强谱带（m）；$10>\varepsilon>1$ 为弱谱带（w）；$\varepsilon<1$ 为非常弱谱带（vw）。

五、特征峰与相关峰

1. 特征峰

对多原子分子的各种振动，进行详细的理论分析是很困难的，人们对于吸收峰的识别主要是对比了大量谱图而总结出一些规律，进而从理论上得到了一些证明。

例如可由十一烷、十一腈及 1-十一烯的红外光谱的对比（图 2-5），识别—C≡N 峰及—CH═CH_2 峰。

对比十一烷与十一腈谱图，很容易看出，后者在 $2247cm^{-1}$ 处多出一个吸收峰，其他峰则基本一致。由于二者的分子结构仅差一个氰基，因此可以认为该峰

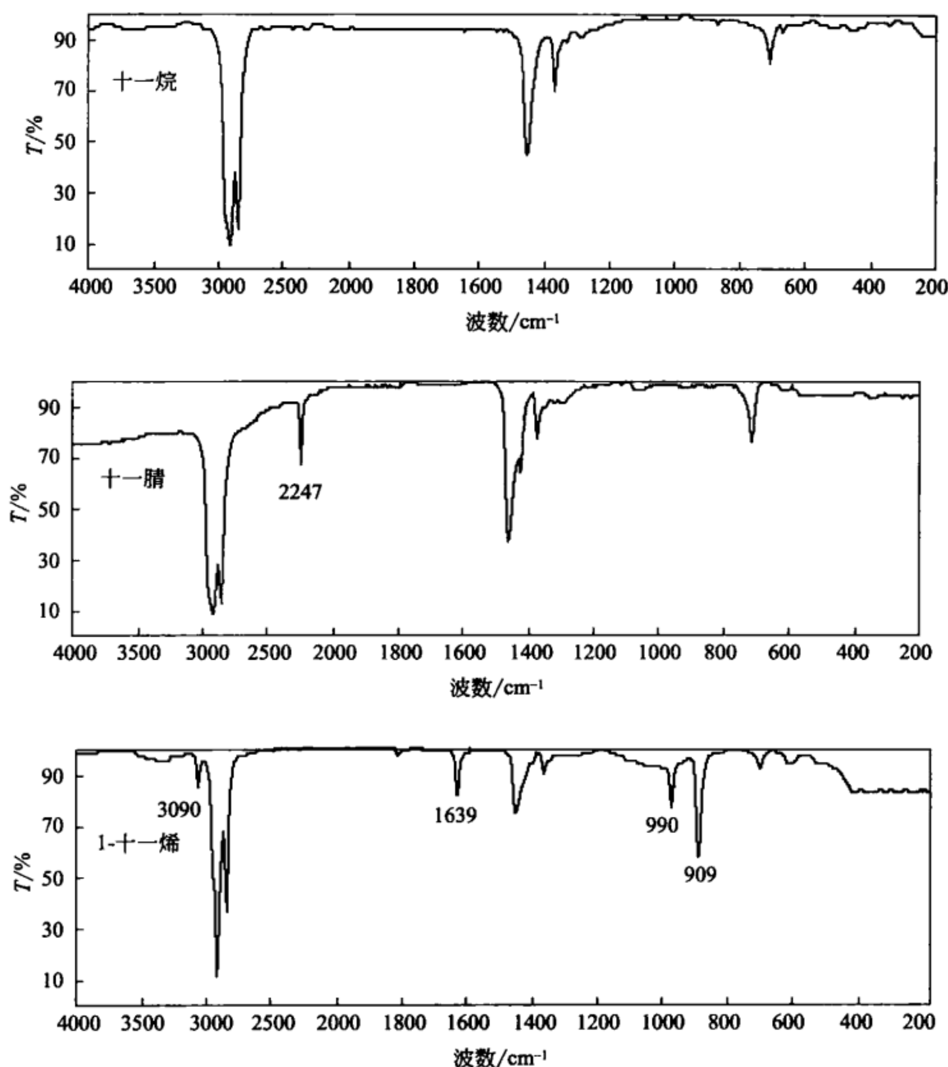


图 2-5　十一烷、十一腈及 1-十一烯的红外光谱

是氰基峰，即由—C≡N 的伸缩振动所引起的基频峰，可记为 $\nu_{C\equiv N}$ 峰。

再对比十一烷及 1-十一烯的谱图，不难发现后者多了 $3090cm^{-1}$、$1639cm^{-1}$、$990cm^{-1}$、$909cm^{-1}$ 这四个吸收峰，进而对比大量类似图谱，证明这四个吸收峰分别起源于 1-十一烯中的—CH═CH₂ 基的 $\nu^{as}_{=CH_2}$、$\nu_{C=C}$、$\gamma_{=CH}$ 及 $\gamma_{=CH_2}$。

上述对比证明官能团（基团）的存在与吸收峰的存在相对应，因此可用一些易辨认有代表性的吸收峰来确认官能团的存在。凡是可以用于鉴别官能团存在的吸收峰，称为特征吸收峰（characteristic absorption band），简称特征峰。如上述的氰基峰等。

2. 相关峰

特征峰可用于鉴定官能团的存在，但多数情况，一种官能团有数种振动形式，而每一种红外活性振动，一般相应产生一个吸收峰。有时还能观测到泛频峰，因而常常不能由单一特征峰肯定官能团的存在。

上例已经说明，在1-十一烯的红外光谱中，由于有—CH═CH_2 基的存在，能明显地观测到 $\nu^{as}_{=CH_2}$、$\nu_{C=C}$、$\gamma_{=CH}$ 及 $\gamma_{=CH_2}$ 四个特征峰。这一组相互依存的特征峰，可称为相关吸收峰，简称相关峰，以区别于非依存的其他特征峰。相关峰的数目与基团的活性振动数及光谱的波数范围有关。

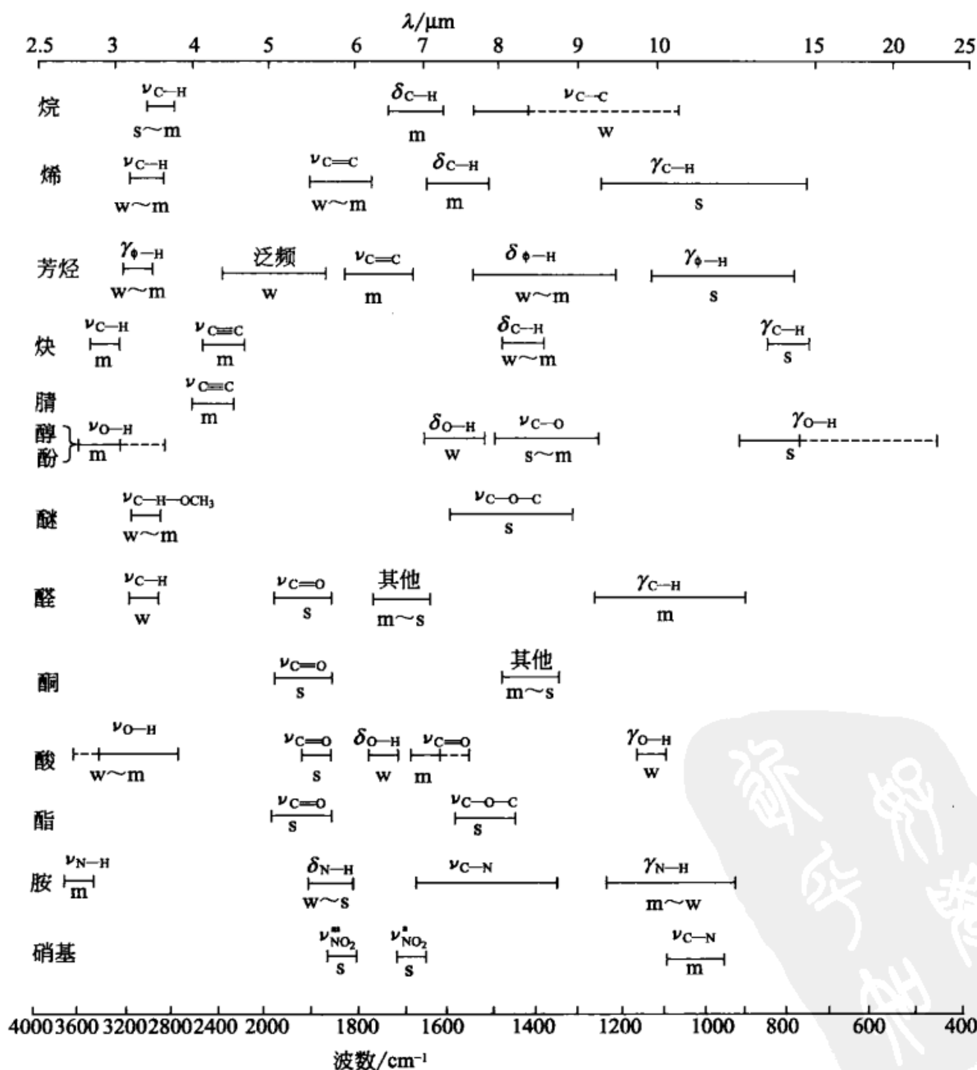


图 2-6 主要官能团相关图

在红外光谱区，多数基团都有一组相关吸收峰，如羧基的相关峰包括：ν_{OH}，$\nu_{C=O}$、ν_{C-O}、δ_{OH}、γ_{OH}五个特征峰。用一组相关峰确定一个官能团的存在，是光谱解析的一条较重要的原则。主要官能团的相关峰见相关图（图 2-6），但图中只列出部分常见的官能团，详细内容可参考有关手册。

六、特征区、指纹区及红外光谱九大重要区段

各种化合物中官能团的特征峰主要位于 4000～1300cm^{-1}区域，这个区域称为特征区。在此区域内振动频率较高，受分子其余部分影响小，吸收峰稀疏，容易辨认，因而具有明显的特征，这是我们进行官能团定性的主要依据。

1300～400cm^{-1}的区域称为指纹区。在此区域内，各种官能团的特征峰特征性不强。但受分子结构的影响较大，分子结构的微小变化，都会引起指纹区光谱的明显改变。这个区域的光谱好像这些化合物的“指纹”一样，用来研究分子的异构体很有用。

根据各官能团的特征峰位，可将红外光谱的主要谱带划分为九大区段，列于表 2-4。

表 2-4 红外光谱九大重要区段

波数/cm^{-1}	波长/μm	振动类型
3750～3000	2.7～3.3	ν_{OH}，ν_{NH}
3300～3000	3.0～3.4	$\nu_{\equiv CH} > \nu_{=CH} \approx \nu_{ArH}$
3000～2700	3.3～3.7	ν_{CH}（$-CH_3$、$-\overset{\mid}{C}H_2$、$-\overset{\mid}{\underset{\mid}{C}}H$、$-CHO$）
2400～2100	4.2～4.9	$\nu_{C\equiv C}$，$\nu_{C\equiv N}$
1900～1650	5.3～6.1	$\nu_{C=O}$（酸酐、酰氯、酯、醛、酮、羧酸、酰胺）
1675～1500	5.9～6.2	$\nu_{C=C}$，$\nu_{C=N}$
1475～1300	6.8～7.7	δ_{CH}
1300～1000	7.7～10.0	ν_{C-O}（酚、醇、醚、酯、羧酸）
1000～650	10.0～15.4	$\gamma_{=CH}$（烯氢、芳氢）

七、影响峰位位移的因素

分子中化学键的振动并不是孤立的，而是受分子中其他部分，特别是相邻基团的影响，有时还会受溶剂、测定条件等外部因素的影响。因此在分析中不仅要知道红外特征峰出现的频率和强度，而且还应了解影响它们的因素。只有这样才能正确进行分析。特别对于结构的测定，往往可以根据基团频率的位移和强度的改变，推断产生这种影响的结构因素。

引起基团频率位移的因素大致分成内部因素和外部因素两类。

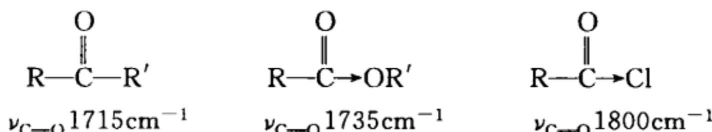
1. 内部因素

主要指分子的内部结构对基团频率位移的影响。

(1) 诱导效应

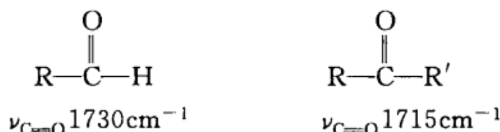
由于取代基具有不同的电负性，通过静电诱导作用引起分子中化学键电荷分布的变化，改变了键力常数而导致基团频率位移的效应称为诱导效应。

吸电子基团的诱导效应常使吸收峰向高频方向移动。例如：



用吸电子基（—OR′或 Cl）代替 R′（烃基），则羰基的伸缩振动频率增加。这是因为吸电子基团的引入，使羰基上的孤对电子向双键转移，羰基的双键性增强，键力常数增大所致。

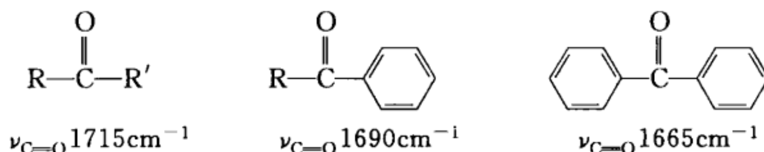
推电子基的诱导效应常使吸收峰向低频方向移动。例如：



用推电子基 R′代替 H，则羰基的伸缩振动频率减小，这是因为推电子基团的引入，使双键的电子云密度减小，羰基的双键性降低，键力常数变小的结果。

(2) 共轭效应

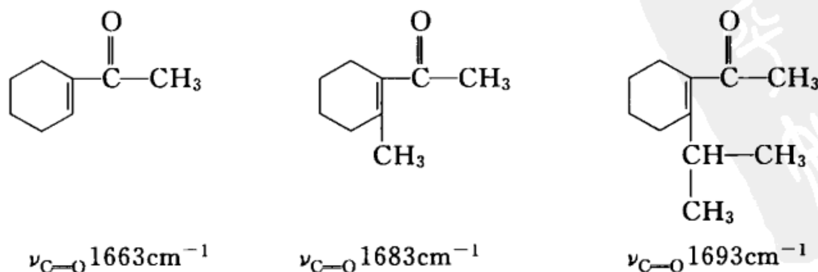
共轭效应的存在常使吸收峰向低频方向移动。例如：



共轭使羰基及双键的 π 电子离域，羰基的双键性减弱，键力常数减小，羰基振动频率降低，吸收峰向低频方向移动。

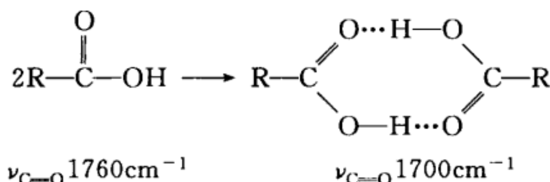
(3) 立体效应

由于立体障碍，使得振动频率升高。例如在下列化合物中由于空间立体障碍，羰基和双键的共轭受到限制，不能在同一平面，使羰基伸缩振动频率增加。



(4) 氢键效应

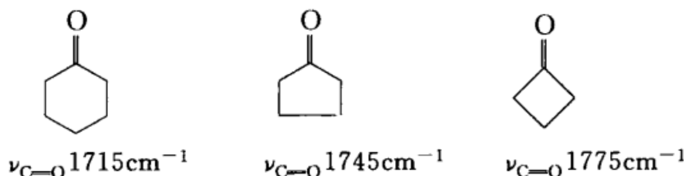
氢键的形成往往使伸缩振动频率降低，谱带变宽。分子间氢键对谱带位置有明显的影响。羰基和羟基之间容易形成氢键，例如两个羧酸分子形成氢键成为二聚体。氢键的形成使电子云密度平均化，C═O 的双键性减少，键力常数减小，因此 C═O 的伸缩振动频率下降。



分子间氢键受浓度影响较大，随浓度的稀释使吸收峰位置改变。因此可观测稀释过程峰位的变化，来判断分子间氢键的形成。例如乙醇在极稀的溶液中呈游离状态，随浓度的增加而形成二聚体、多聚体，它们的吸收峰 ν_{-OH} 分别为 3640cm^{-1}、3515cm^{-1}、3350cm^{-1}，依次降低。分子内氢键不受浓度影响，有助于结构分析。

(5) 环的张力

环的张力越大，振动频率越高。例如在六、五、四元环酮中，环的元数小其张力大，因此四元环酮的 $\nu_{C=O}$频率最高。



2. 外部因素

主要指测定时物态、测定条件和溶剂效应等因素。

(1) 样品的物态

样品处于蒸气状态时振动频率最高，在非极性溶剂中次之，在极性溶剂中或以液体、固体状态测定的频率最低。由于物态不同，红外光谱有很大差别，所以一定要加以注意。

(2) 溶剂的影响

极性基团的伸缩振动频率常随溶剂的极性增加而降低。这是因为极性基团被极性溶剂分子溶剂化后，减小了极性基团的键力常数，使其振动频率降低。例如丙酸的 C═O 伸缩振动与溶剂极性的关系如下：

气态	$\nu_{C=O}$	1780cm^{-1}
非极性溶剂	$\nu_{C=O}$	1760cm^{-1}
极性溶剂乙醚	$\nu_{C=O}$	1735cm^{-1}

极性溶剂乙醇　　$\nu_{C=O}$　　$1720cm^{-1}$

液态丙酸　　$\nu_{C=O}$　　$1712cm^{-1}$

由此可见，同一物质在不同的溶剂中，由于溶质和溶剂间相互作用不同，测得的红外光谱也不同。因此在测定红外光谱时标准与试样要采用同种溶剂，并且尽量采用非极性溶剂。

(3) 仪器色散元件的影响

仪器的色散元件分光栅和棱镜两类，光栅分辨率高而棱镜分辨率低。在 $4000 \sim 2000cm^{-1}$ 波段差别更为明显。例如聚苯乙烯薄膜的红外光谱，在 $3110 \sim 2800cm^{-1}$ 处用光栅红外仪测定能分出 7 个峰，而用棱镜红外仪测定只能分出 5 个峰。

第三节　有机化合物的典型红外光谱

一、脂肪烃类

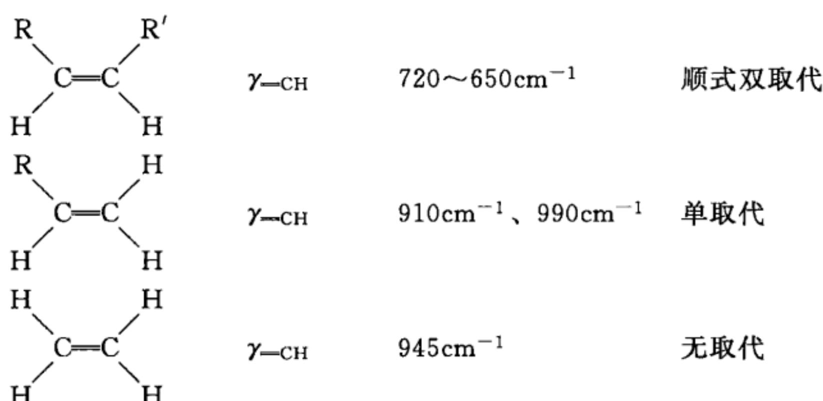
(1) 烷烃主要特征峰

烷烃主要特征峰有 ν_{-CH} $3000 \sim 2800cm^{-1}$ (s，张力环除外)，$\delta^{as}_{CH_3}$ $1465cm^{-1}$ (m)，$\delta^{s}_{CH_3}$ $1375cm^{-1}$ (s)，δ_{CH_2} 1450 (s)，ν_{C-C} $1250 \sim 1140cm^{-1}$。其中的 ν_{-CH} 伸缩振动频率：$\nu^{as}_{CH_3}$ $[(2962 \pm 10)cm^{-1}] > \nu^{as}_{CH_2}$ $[(2926 \pm 10)cm^{-1}]$；$\nu^{s}_{CH_3}$ $[(2872 \pm 10)cm^{-1}] > \nu^{s}_{CH_2}$ $[(2853 \pm 10)cm^{-1}]$；ν_{CH} $[(2890 \pm 10)cm^{-1}]$。

(2) 烯烃主要特征峰

烯烃主要特征峰有 ν_{CH} $3095 \sim 3000cm^{-1}$ (m)，$\nu_{C=C}$ $1680 \sim 1620cm^{-1}$ (w)，$\gamma_{=CH}$ $1000 \sim 650cm^{-1}$ (s)，峰强与对称情况有关。$\gamma_{=CH}$ 可用于确定取代位置及构型，反式单烯双联代的 $\gamma_{=CH}$ 大于相同取代基的顺式单烯双取代，前者为 $(965 \pm 5)cm^{-1}$ (s)，后者为 $(690 \pm 5)cm^{-1}$ (s)。由于取代基类型不一样，$\gamma_{=CH}$ 也不同：

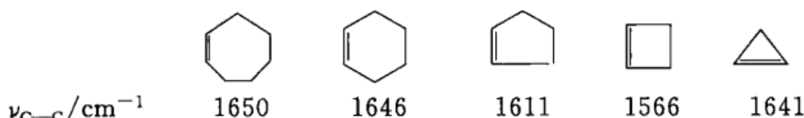
结构			
$RR'C=CHR''$	$\gamma_{=CH}$	$810cm^{-1}$	三取代
$RR'C=CH_2$	$\gamma_{=CH}$	$890cm^{-1}$	双取代
$RHC=CHR'$（R 与 R′ 反式）	$\gamma_{=CH}$	$965cm^{-1}$	反式双取代



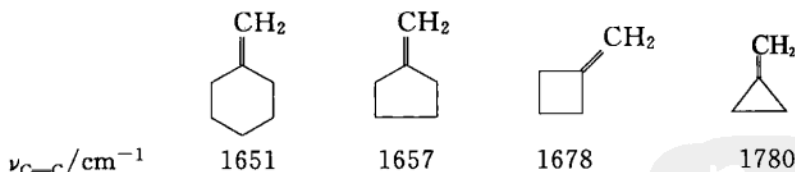
顺式与反式取代基相同时 $\nu_{C=C}$ 顺式峰强于反式；取代基完全对称时，峰消失（图 2-4）。

共轭双烯（或 C═C）与 C═O、C≡N、芳环共轭时，C═C 伸缩振动频率降低 10～30cm^{-1}。例如乙烯苯中乙烯基的 $\nu_{C=C}$ 为 1630cm^{-1}。双烯常由于两个双键伸缩振动的偶合，而出现两个吸收峰。其高频吸收峰与低频吸收峰分别为同相（振动相位相同）及反相振动偶合所产生。例如 1，3-二烯的 $\nu_{C=C}$ 为约 1650cm^{-1}和 1600cm^{-1}。

环烯的内双键伸缩振动频率受双键与单键间的角度影响，以 90°时的振动频率最小。如：



环烯的环外双键的伸缩振动频率随环张力的增加而增加。如：



（3）炔烃主要特征峰

炔烃主要特征峰有 $\nu_{\equiv CH}$ 3300cm^{-1}，$\nu_{\equiv CH}$ 约 2150cm^{-1}，$\delta_{\equiv CH}$ 1250cm^{-1}，$\gamma_{\equiv CH}$ 620cm^{-1}。当有共轭双键与其相连时，峰位右移，伸缩频率下降；有对称取代基取代时，则无峰，例如 R—C≡C—R 的 $\nu_{C\equiv C}$ 等于零；有两个炔键相连时，$\nu_{C\equiv C}$ 出现双峰，例如 R—C≡C—C≡CH 有 $\nu_{C\equiv C}$ 2040cm^{-1}和 $\nu_{C\equiv C}$ 2260cm^{-1}。图 2-7 是庚烷、1-庚烯及 1-庚炔的红外光谱，供参考。

二、芳香烃类

其红外光谱见图 2-8。主要吸收峰有 $\nu_{\phi H}$（$\nu_{=CH}$）3100～3000cm^{-1}（m），

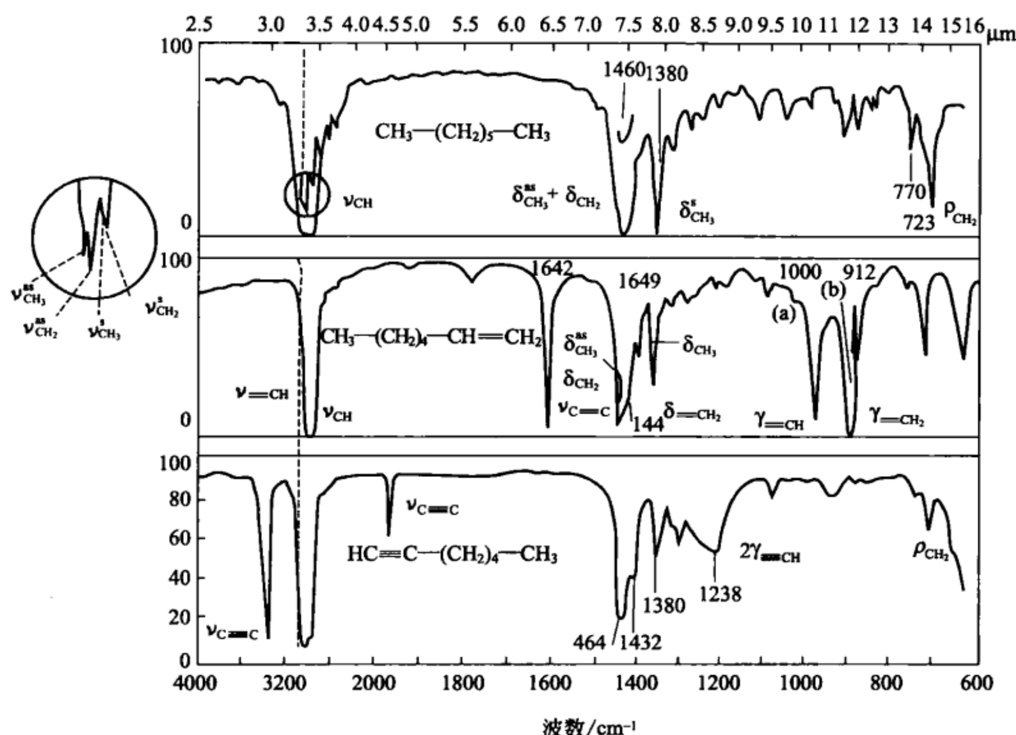


图 2-7 庚烷、1-庚烯及 1-庚炔的红外光谱

$\nu_{C=C}$（骨架振动）约 1600cm^{-1}（m 或 s）和约 1500cm^{-1}（m 或 s），$\gamma_{\phi H}$（$\gamma_{=CH}$）900～650cm^{-1}（s），在 2000～1667cm^{-1}区间（w 或 vw）还出现泛频峰。前三种特征峰是决定苯环存在的最主要吸收峰，$\gamma_{\phi H}$与泛频峰是决定取代基位置与数目的最重要特征峰。

$\nu_{C=C}$约 1600cm^{-1}和约 1500cm^{-1}吸收峰为Π_6^6共轭体系 C═C 伸缩振动的重要特征峰，其中 1500cm^{-1}峰较强。当苯环与不饱和或含 n 电子的基团共轭时，由于双键伸缩振动间的偶合使 1600cm^{-1}峰分裂，约在 1580cm^{-1}出现第三吸收峰。同时 1600cm^{-1}及 1500cm^{-1}峰加强，也有时在约 1450cm^{-1}处出现第四吸收峰，但常与 CH_3 或 CH_2 的弯曲振动峰重叠而不易辨认。

$\gamma_{\phi H}$与取代基位置关系密切，而且峰很强，是确定苯环上取代基位置及鉴定苯环存在的重要特征峰。$\gamma_{\phi H}$随苯环上相邻氢数目的减少，向高频方向移动。苯环上若有两种数目的相邻氢，则产生两个吸收峰。

取代苯的泛频峰（图 2-9）是苯环取代位置的高度特征峰，峰形与峰位主要取决于取代基的数目与位置，而与取代基的性质关系很小。这类峰强度小，在有极性取代基时更弱。

λ/μm

2.5 3 4 5 6 7 8 9 10 15 20 25

泛频 $\nu_{C=C}$ $\delta_{\phi-H}$ $\gamma_{\phi-H}$ $\nu_{\phi-H}$

$\nu_{\phi H}$ ν_{CH_3} CH_3 CH_3 $\nu_{C=C}$ δ_{CH_3} 743 $\delta_{\phi H}$ $\nu_{C=C}$

CH_3 CH_3 767 692

CH_3 CH_3 792

4000 3200 2400 1900 1700 1500 1300 1100 900 700 500

3600 2800 2000 1800 1600 1400 1200 1000 800 600 400

波数/cm^{-1}

图 2-8 邻、间及对位二甲苯红外光谱

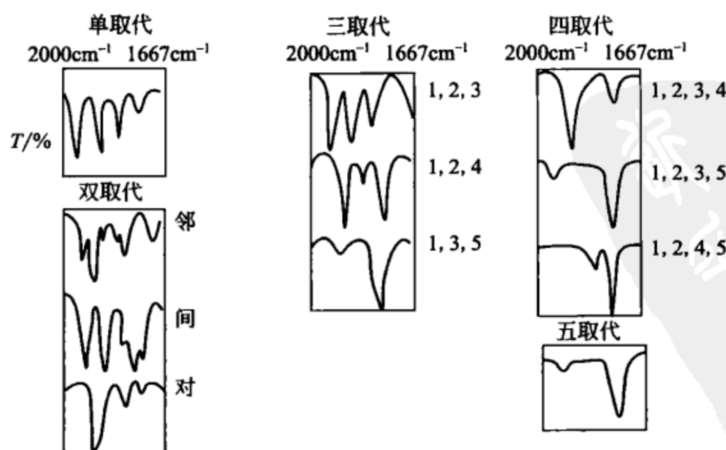


图 2-9 取代苯的泛频峰

三、醚、醇和酚类

醚和醇的红外光谱（见图 2-10），它们都有 ν_{C-O} 峰，而醇又比醚多了 ν_{-OH} 峰，脂肪醇和酚（红外光谱见图 2-1）都具有 ν_{-OH} 及 ν_{C-O} 峰，但峰位有所不同。除此之外，酚具有苯环的特征峰。醇与酚的主要特征峰有 ν_{-OH} 3650～3590cm^{-1}（s）游离的羟基锐峰、ν_{-OH} 3500～3200cm^{-1}（s 或 m）缔合羟基的钝峰和 ν_{C-O} 1250～1000cm^{-1}。

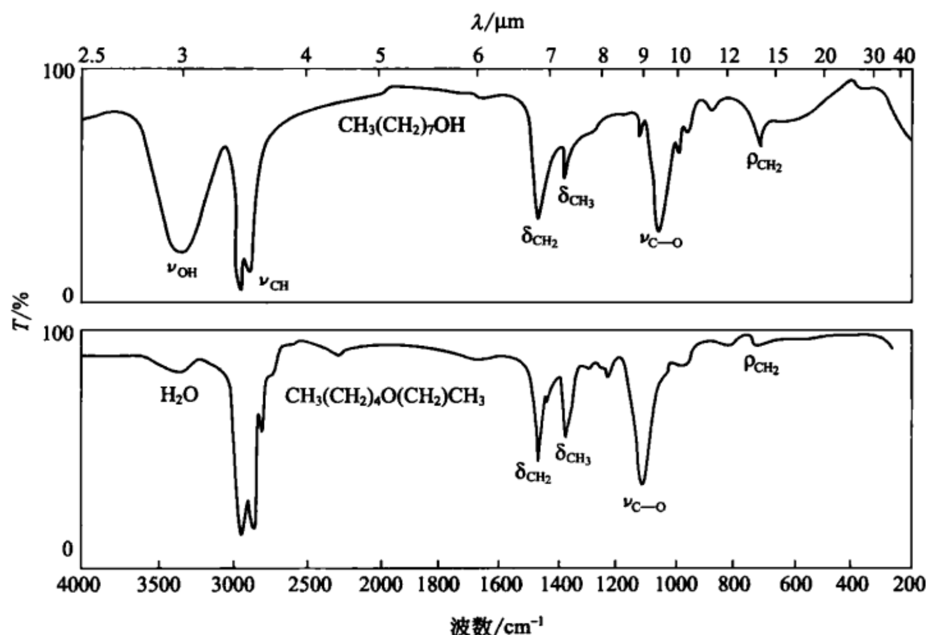


图 2-10　1-辛醇与戊醚的红外光谱

醚的 ν_{C-O} 峰出现在 1300～1000cm^{-1} 区间，不具有 ν_{-OH} 峰，是醚与醇的主要区别。醚键（C—O—C）具有不对称与对称伸缩振动两种形式，但开链醚的取代基对称或基本对称时，只能看到位于 1150～1060cm^{-1} 的 ν^{as}_{C-O-C} 的强吸收峰，而 ν^{s}_{C-O-C} 峰消失或很弱。醚基氧与苯环或烯基相连时，ν_{C-O-C} 不对称伸缩振动频率增加，对称伸缩峰峰强度加大。例如，苯甲醚有 ν^{as}_{C-O-C} 1250cm^{-1}（s）和 ν^{s}_{C-O-C} 1040cm^{-1}（s）。

四、羰基化合物

羰基峰为红外谱图上的最强峰，峰位在 1700cm^{-1} 左右，且很少与其他峰重叠，易辨认，极为重要。含羰基化合物的羰基伸缩振动频率的顺序是：

酸酐（ν^{as}1820cm^{-1}，谱带 1）、酰氯（1800cm^{-1}）、酸酐（ν^{s} 1760cm^{-1}，谱带 2）、酯（1735cm^{-1}）、醛（1725cm^{-1}）、酮（1715cm^{-1}）、羧酸（1710cm^{-1}）、酰胺（1680cm^{-1}）。将含羰基化合物归纳为下述三组，以便于谱图的对比识别。

1. 酮、醛和酰氯

这类化合物的红外光谱如图 2-11 所示。

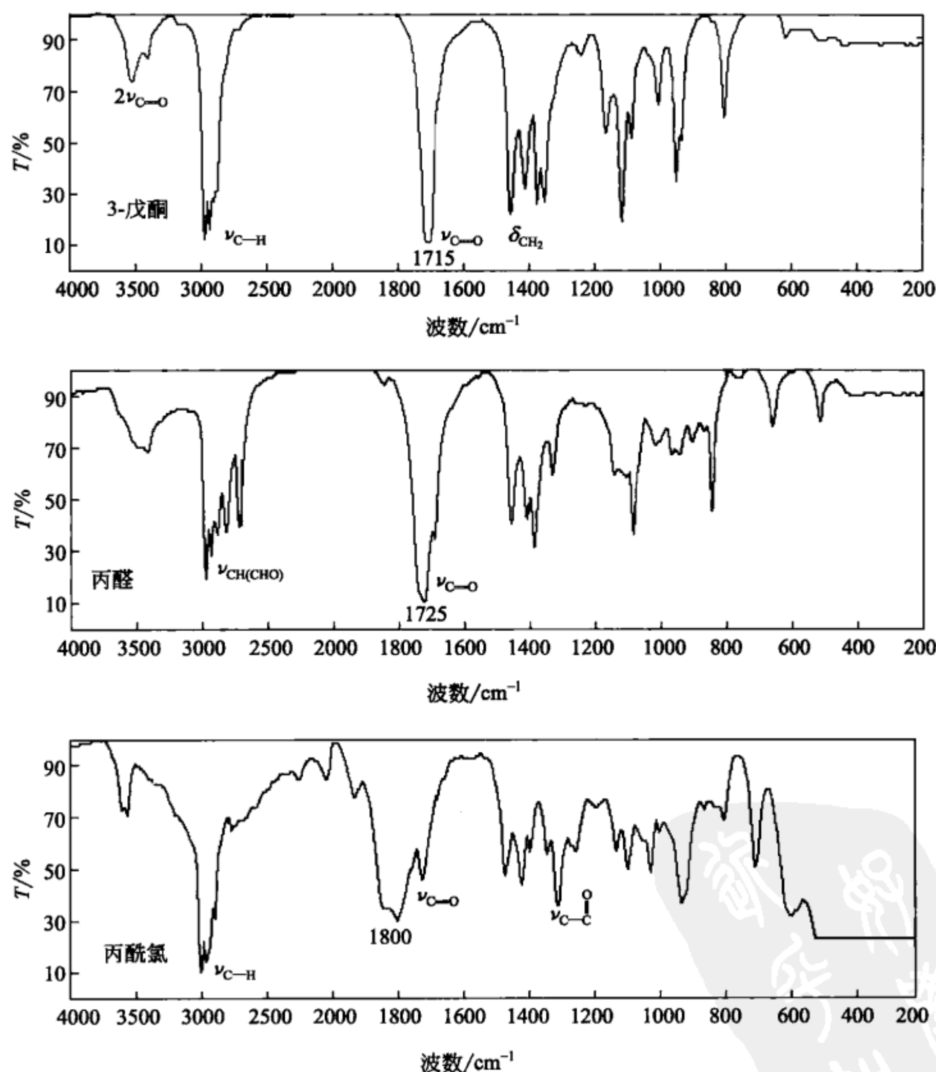
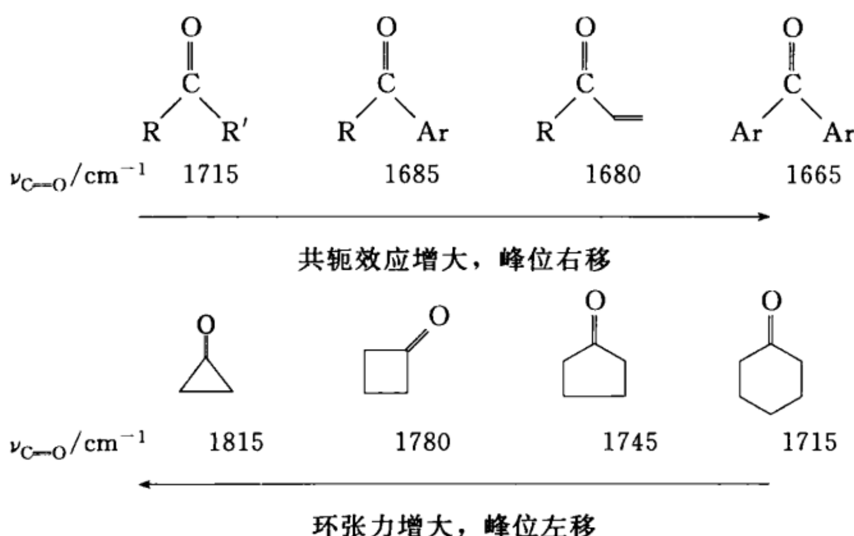


图 2-11　3-戊酮、丙醛及丙酰氯的红外光谱

酮类主要特征峰是 $\nu_{C=O}$ 约 1715cm^{-1}（s，基准值），共轭体系中峰位右移；在环酮中张力增大，羰基吸收峰左移。



醛类的主要特征峰有 $\nu_{C=O}$ 约 $1725cm^{-1}$（s，基准值），产生共轭时峰位右移；ν_{C-H} 约 $2850cm^{-1}$、$2750cm^{-1}$（w）两个峰，是醛基鉴别的特征峰。

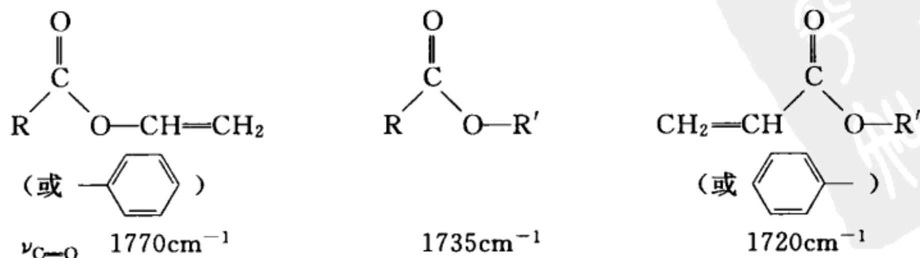
酰氯的主要特征峰是 $\nu_{C=O}$ 约 $1800cm^{-1}$（s，基准值），共轭时峰位右移；ν_{C-Cl} $800\sim600cm^{-1}$。

2. 酸、酯和酸酐

这类化合物的红外光谱如图 2-12 所示。

酸类的主要特征峰有 ν_{-OH}，在 $3400\sim2500cm^{-1}$ 区间，是液态或固态羧酸由于氢键缔合呈现的宽峰；$\nu_{C=O}$ $1740\sim1680cm^{-1}$（s）；ν_{C-O} $1320\sim1200cm^{-1}$（m）。脂肪酸的羟基伸缩振动 ν_{OH}，常呈现以 $3000cm^{-1}$ 为中心的宽峰，烷基的碳-氢伸缩振动峰常被它部分淹没，只露峰顶。通常烷基碳链越长，被羧基峰淹没越少（见图 2-13）。ν_{OH} 峰尾部 $2700\sim2600cm^{-1}$ 和 $2600\sim2500cm^{-1}$ 是 ν_{C-O} 与 δ_{OH} 的合频峰和 ν_{C-O} 的二倍频峰。芳酸与脂肪酸的羟基伸缩振动峰位类似，但峰顶更不规则，$\nu_{\Phi H}$ 峰几乎全被 ν_{OH} 淹没，如图 2-14 所示。

酯类（RCOOR′）的主要特征峰有 $\nu_{C=O}$ 约 $1735cm^{-1}$（s，基准值）。羰基与 R 基共轭，峰位右移。R′与单键氧共轭（p-π 共轭），峰位左移。共轭效应对于酯类羰基伸缩频率的影响可由下例说明。



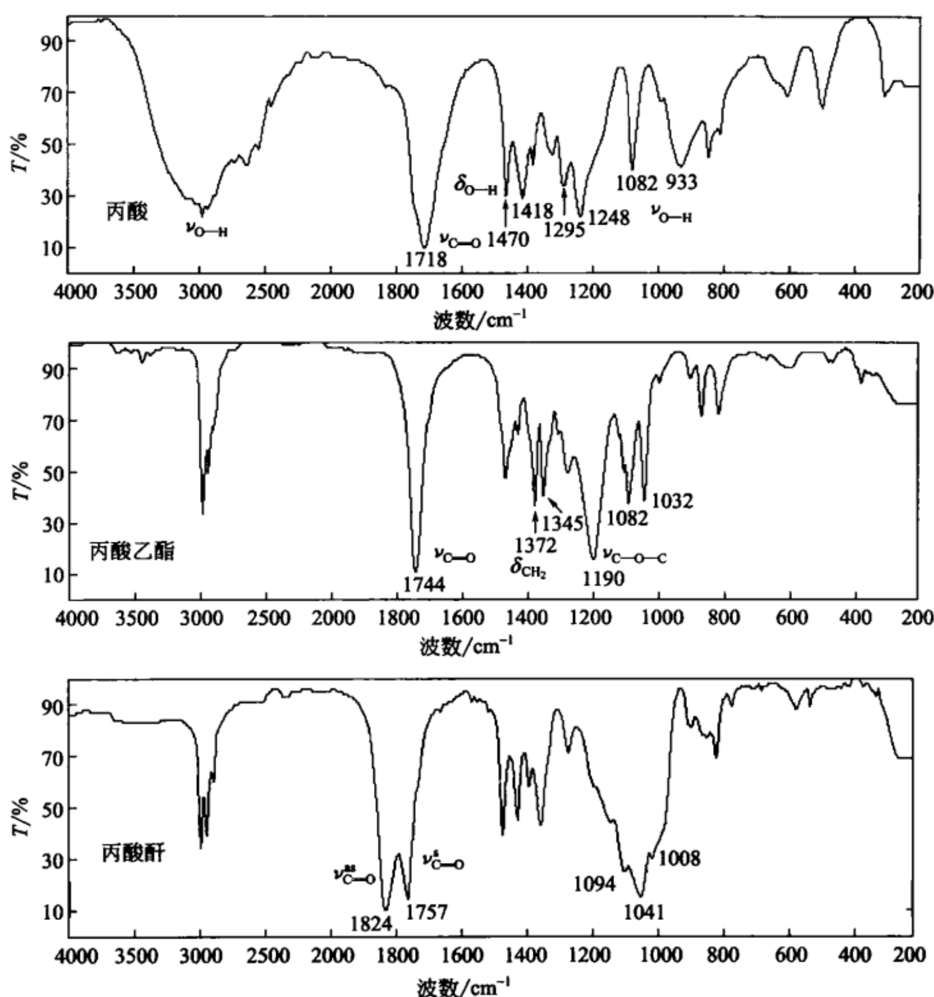


图 2-12 丙酸、丙酸乙酯及丙酸酐的红外光谱

ν_{C-O}在 1300～1000cm^{-1}区间出现 C—O—C 不对称及对称伸缩振动峰。因前者强度大，所以有时只能看到不对称伸缩振动峰。

酸酐类主要特征峰有 $\nu_{C=O}$ 双峰，ν^{as} 1850～1800cm^{-1} (s)，ν^{s}1780～1740cm^{-1} (s)，ν_{C-O}1300～900cm^{-1} (s)。酸酐羰基峰分裂为双峰，是酸酐鉴别的主要特征峰，酸酐与酸相比不含羟基特征峰。

3. 酰胺

酰胺类的红外光谱如图 2-15 所示，主要特征峰是 ν_{NH} 3500～3100cm^{-1} (s)；$\nu_{C=O}$ 1680～1630cm^{-1} (s)；δ_{NH} 1550～1460cm^{-1}；ν_{C-N} 1400cm^{-1}。

ν_{NH}振动在伯酰胺中出现 ν^{as}_{NH} 3350cm^{-1}和 ν^{s}_{NH} 3180cm^{-1}双峰；仲酰胺中为 ν_{NH} 3270cm^{-1}锐利单峰；叔酰胺中无 ν_{NH}峰。

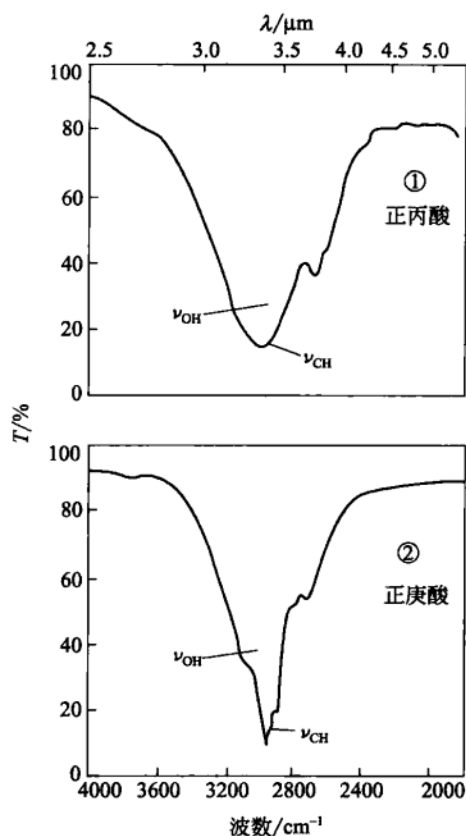


图 2-13　羧酸羟基峰

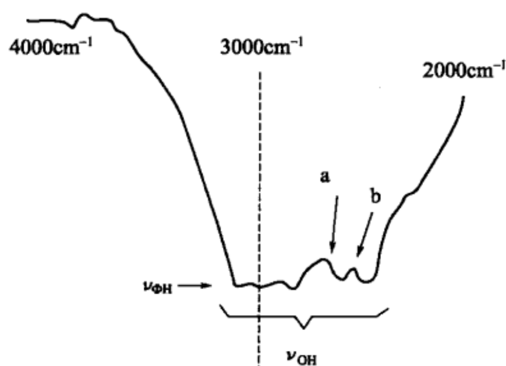


图 2-14　苯甲酸的羟基伸缩峰

a—$\nu_{C-O}+\delta_{OH}$；b—$2\nu_{C-O}$

酰胺的 $\nu_{C=O}$ 和 δ_{NH} 峰分别称酰胺谱带Ⅰ和谱带Ⅱ，是酰胺较主要的特征峰。环酰胺的 $\nu_{C=O}$ 频率与环张力有关，环张力增大，$\nu_{C=O}$ 的频率增大。除此之外酰

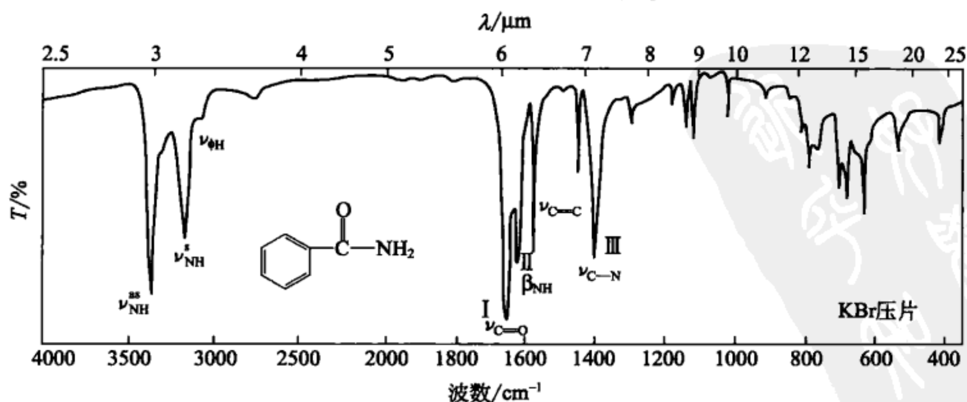


图 2-15　苯甲酰胺的红外光谱

胺还有 ν_{C-N}，即谱带Ⅲ，但不如谱带Ⅰ、Ⅱ重要。

五、胺、腈和硝基化合物

1. 胺

胺类化合物红外光谱如图 2-16 所示，主要特征峰有 ν_{NH} 3500～3300cm^{-1}（脂肪胺较弱，芳香胺较强），伯胺双峰，仲胺单峰，叔胺无此峰；δ_{NH} 1650～1590cm^{-1}（伯胺），1500cm^{-1}（m 或 s，仲胺）；ν_{C-N} 1360～1020cm^{-1}（m）；γ_{NH} 900～650cm^{-1}（s）。

δ_{NH}峰：在脂肪仲胺中强度很弱，在芳香伯胺中强度很大。由其峰强度可以鉴定氨基是否与苯环直接连接，但有时与苯环的骨架振动峰重合。

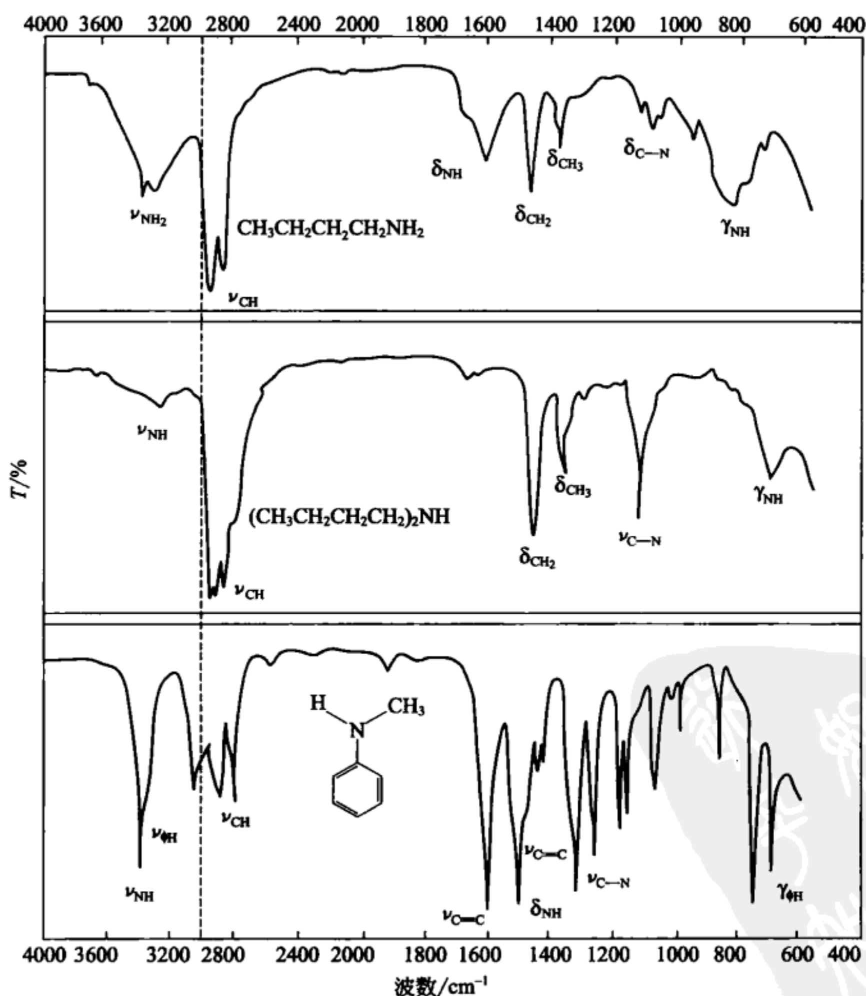


图 2-16 丁胺、二丁胺及 *N*-甲基苯胺的红外光谱

ν_{NH}峰：将芳胺与脂肪胺相比，ν_{NH}峰位左移，而且增加了$\nu_{\phi H}$、$\nu_{C=C}$和$\gamma_{\phi H}$等苯环特征峰。

2. 腈

主要特征峰有$\nu_{C\equiv N}$约2250cm^{-1}的中等强度的尖峰，极易识别。在脂肪族腈中为2260～2240cm^{-1}；芳香族腈中为2240～2220cm^{-1}；异腈类中为2185～2105cm^{-1}。脂肪腈的红外光谱可参见图2-5。

3. 硝基化合物

硝基化合物的红外光谱见图2-17，主要特征峰有$\nu_{NO_2}^{as}$ 1600～1500cm^{-1} (s)和$\nu_{NO_2}^{s}$ 1390～1300cm^{-1} (s)，强度很大，容易辨认；ν_{C-N} 870cm^{-1}（芳硝基化合物）。在芳香硝基化合物中，硝基的存在使苯环的$\nu_{\phi H}$和$\nu_{C=C}$明显减弱。

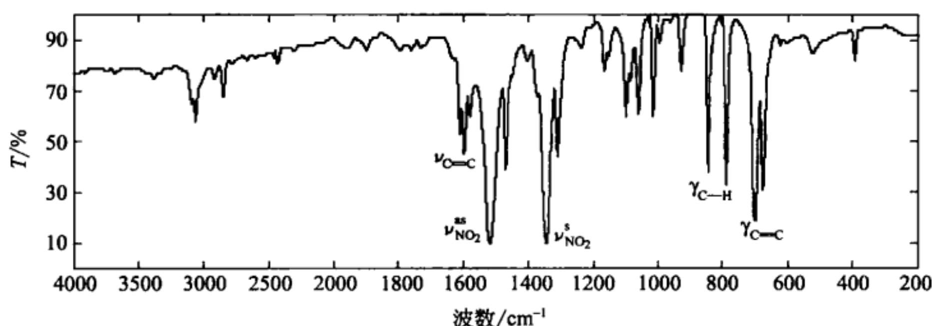


图2-17 硝基苯的红外光谱

第四节 红外分光光度计简介

一、红外分光光度计的种类

目前生产和使用的红外光谱仪主要有色散型和干涉分光型两大类。

1. 色散型双光束红外分光光度计

这类红外光谱仪也称光栅红外分光光度计。按仪器的平衡原理可分为光学平衡式和电学平衡式两类，这里只介绍前者。

双光束红外分光光度计如图2-18所示，从光源发出的红外辐射，分成两束，一束通过试样池，另一束通过参比池，然后进入单色器。在单色器内通过以一定频率转动的扇形镜（斩光器），使试样光束和参比光束交替地进入单色器中的光栅，最后进入检测器。随着扇形镜的转动，检测器交替地接受这两束光。

如从单色器发出的为某波数的单色光不被试样吸收，此时两束光的强度相

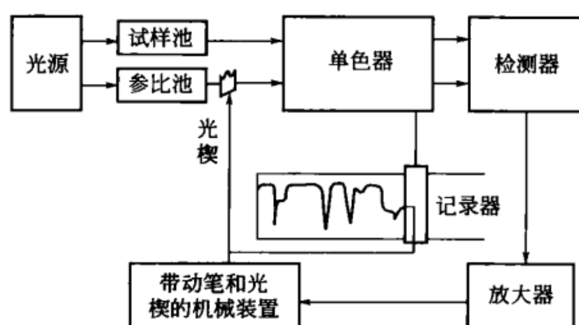


图 2-18 双光束红外分光光度计示意图

等，检测器不产生交流信号；改变单色器发出的波数，试样对该波数的光产生吸收，则两束光的强度有差别，在检测器上就产生一定频率的交流信号（其频率决定于斩光器的转动频率）。通过交流放大器放大，此信号即通过伺服系统驱动参比光路上的光楔（光学衰减器）进行补偿，减弱参比光路的光强，使投射在检测器上的光强等于试样光路的光强。试样对某一波数的红外吸收越多，光楔也就越多地遮住参比光路以使参比光强同样程度地减弱，使两束光重新处于平衡。试样对不同波数的红外辐射的吸收有差别，参比光路上的光楔也相应地按比例移动以进行补偿。记录笔与光楔同步，因此光楔部位的改变相当试样的百分透光度，它作为纵坐标直接被描绘在记录纸上。由于单色器内光栅的转动，使单色光的波数连续地发生改变，并与记录纸的移动同步，即是横坐标。这样在记录纸上就描绘出百分透光度（T，%）对波数（或波长）的红外吸收光谱曲线，即红外光谱。

2. 干涉分光型红外分光光度计

干涉分光型红外分光光度计（图 2-19），即傅里叶变换红外分光光度计(FT-IR)。

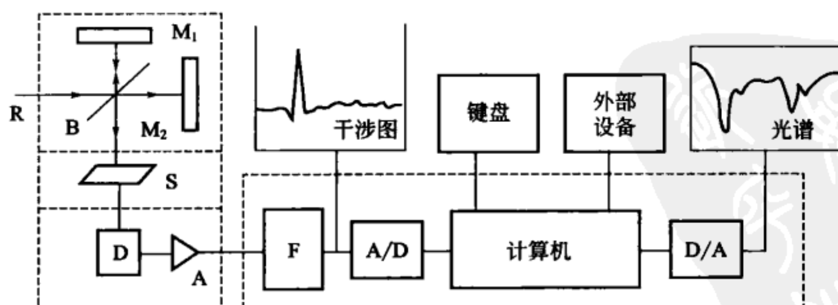


图 2-19 干涉分光型红外分光光度计示意图

R—光源；M_1—定镜；M_2—动镜；B—光束分裂器；S—样品；D—探测器；A—放大器；F—滤光器；A/D—模数转换器；D/A—数模转换器

FT-IR 仪器与色散型红外分光光度计的不同，主要表现在单色器的差别，常用单色器为迈克尔逊（Michelson）干涉仪（图 2-20)。FT-IR 仪器如图 2-19 所示。由光源发出的红外辐射经迈克尔逊干涉仪产生干涉图，通过样品后得到带有样品信息的干涉图。用计算机解出此干涉图函数的傅里叶余弦变换，就得到了样品的红外光谱。

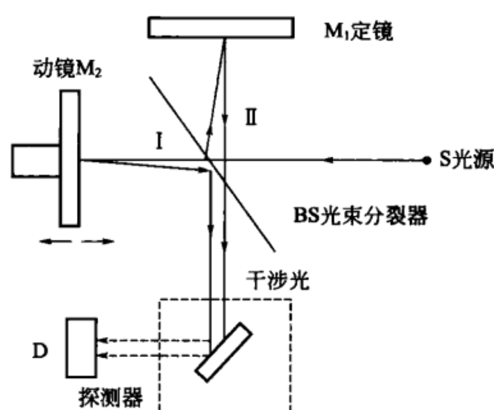


图 2-20 Michelson 干涉仪工作原理图

迈克尔逊干涉仪由定镜 M_1、动镜 M_2 及光束分裂器 BS 所组成（图 2-20)。M_2 沿图示方向移动，故称动镜。在 M_1 与 M_2 间放置呈 45°角的半透膜光束分裂器 BS。BS 可使 50% 的入射光透过，其余 50% 反射。当光源 S 发出的光进入干涉仪后，被分裂为透射光Ⅰ和反射光Ⅱ。Ⅰ和Ⅱ两束光分别被动镜与定镜反射，而形成相干光。因动镜移动，可改变两束光的光程差。当光程差是波长的整数倍时，为相长干涉，亮度最大（亮条）；当光程差是半波长的奇数倍时，为相消干涉，亮度最小（暗条）。因此，当动镜 M_2 以匀速向 BS 移动时，即连续改变两光束的光程差，得到干涉图。

二、红外分光光度计的性能

红外分光光度计的性能指标有分辨率、波数准确度与重复性、透光率（T）或吸收度（A）的准确度与重复性、I_0（100%）线的平直度、检测器满度能量输出、狭缝线性及杂散光等项。前两项为仪器的最主要指标。

1. 分辨率

红外分光光度计的分辨率，或称分辨本领，多用在某波数处恰能分开两个吸收带的波数差为指标（$\Delta\bar{\nu}/\bar{\nu}$）。通常采用一些简便的表示法：某一样品在某一波数区所能分辨出峰的峰数；一定波数处相邻的分离深度。常用聚苯乙烯薄膜为试样，分辨度高的仪器在 3100～2800cm^{-1}区间能分出七个碳氢伸缩振动峰；五个不饱和碳氢伸缩振动峰；两个饱和碳氢伸缩振动峰，且 3104cm^{-1}及 3001cm^{-1}的分离深度为敏感的检查指标（图 2-21)。也有的仪器用 2851cm^{-1}与 2921cm^{-1}的分离深度衡量。

2. 波数准确度与重复性

仪器测定所得波数与文献值之差称为波数准确度。多次（3～5 次）重复测量同一样品，所得同一吸收峰波数最大值与最小值之差称为波数重复性。在

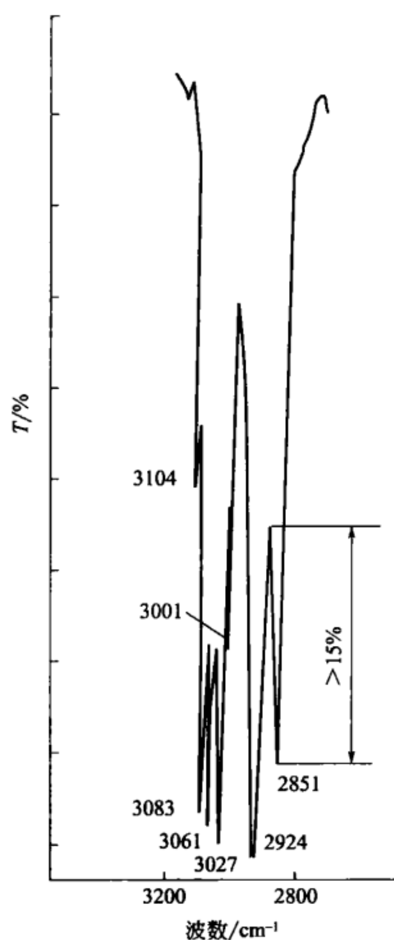


图 2-21 聚苯乙烯薄膜在 3110～2800cm^{-1}区间的红外光栅光谱

4000～400cm^{-1}之间可用聚苯乙烯薄膜检查。波数准确性指标很重要，关系到测得光谱峰位的正确性，直接影响光谱解析。

第五节 红外光谱的解析与应用

红外光谱的应用大致可分为有机化合物结构分析、定性分析和定量分析。

一、有机化合物结构分析

有机化合物结构分析实际上是对有机物红外光谱所带的信息进行分析综合——光谱解析，进而确定有机物分子的结构式。对于简单的化合物，根据分子

式和利用红外光谱就可确定出结构式，对于比较复杂的化合物，只用红外光谱是很难确定其结构式的，需和核磁共振、质谱、紫外光谱等分析手段配合，才能确定出其结构式。

1. 红外光谱解析程序

（1） 了解样品的来源和性质

了解样品的来源，可帮助估计样品及杂质的范围。样品纯度需大于 98%，若不符合纯度要求，则需精制或色谱分离，而后再用红外光谱定性。样品的沸点、熔点、折射率、旋光度等物理性质，可作为光谱解析的旁证。另外，分子式常常可提供许多的物质结构信息。用分子式可以计算其不饱和度，可以估计分子中是否有双键、叁键、芳香苯核及饱和化合物等，并可验证光谱解析结果的合理性。

（2） 计算化合物的不饱和度

解析之前由分子式计算出化合物的不饱和度（U），对推断未知物的结构非常有帮助。不饱和度即分子中距离达到饱和所缺一价元素的成对个数，每缺两个一价元素，不饱和度为 1 个单位。

若分子式中含有一、二、三、四价元素（主要指 H、O、N、C 等），则不饱和度有：

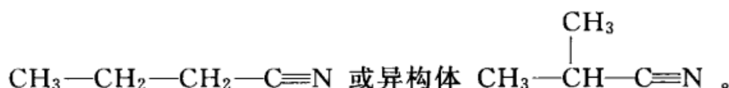
$$U=\frac{2+2n_4+n_3-n_1}{2} \tag{2-6}$$

式中，n_1、n_3、n_4 分别为分子式中一、三、四价元素的数目。在计算不饱和度时，二价元素的数目无需考虑，因为它根据分子结构的不饱和情况以双键或单键来填补。

不饱和度值与物质结构有一定的规律：$U=0$ 为链状饱和化合物。$U=1$ 为一个双键（$C=C$，$C=O$）或脂环化合物，结构中若含有双键和脂环，则 $U\geqslant 1$；$U=2$ 为一个叁键的化合物，结构中若含叁键，则 $U\geqslant 2$；$U=4$ 为一个苯环化合物，结构中若含有六元芳环时，则 $U\geqslant 4$。

例如，C_6H_8 的不饱和度是 3，因此不含苯环，再根据分子式中 C、H 原子的数目和上述规律推判化合物的结构可能为 $CH_2=CH-CH=CH-CH=CH_2$，当然符合这种情况的还有几种异构体。

再如，C_6H_6 的不饱和度是 4，可能含有苯环，又根据 C、H 原子的数目，认为该化合物的结构为 。又如，C_4H_7N 的不饱和度为 2，分子中可能有一个叁键。因为分子式中有一个 N 原子，所以叁键应为 $-C\equiv N$，故结构式为



(3) 识别特征区和指纹区红外光谱

光谱解析应遵循先简单后复杂，先特征区后指纹区，先强峰后弱峰，先粗查后细查，先否定后肯定的原则进行。

特征区光谱可确定化合物中的官能团，由第一强峰可预料化合物的类别；通过碳氢振动类型及是否存在芳环的骨架振动，判断化合物是芳香族、脂肪族饱和或不饱和化合物。ν_{C-H}发生在3300～2800cm^{-1}间，大体以3000cm^{-1}为界，高于3000cm^{-1}是不饱和，低于者为饱和的。芳香环的骨架振动（$\nu_{C=C}$）出现在1650～1430cm^{-1}间，非共轭环出现2个峰，共轭环有3～4个峰。其中以（1600±20)cm^{-1}和（1500±25)cm^{-1}为最主要，是鉴别有无芳环存在的标志。

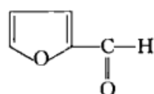
解析时先按待查吸收峰的峰位，查找红外光谱九大重要区段，初步了解吸收峰的起源（由何种振动引起）。或按峰位在相关图上作垂线，看与哪些吸收峰相交，并横向观察相关峰，再返回未知物光谱，查对这些相关峰或主要相关峰是否存在。若存在，则第一强峰的归属可以初步认定，这一步称为“粗查”，而后再根据相关峰的峰位数据（查手册)，仔细核对未知光谱，肯定第一强峰的归属，此步称为“细找”。同理识别特征区中强度依次减弱的吸收峰，有必要再解析指纹区光谱。

指纹区的许多吸收峰与特征区吸收峰相关，可以作为化合物含有某一基团的旁证，并可确定化合物的细微结构。如推断芳香环上的取代基位置和一些化合物的几何异构体。

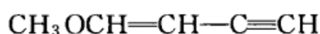
对于简单光谱，一般解析一两组相关峰即可确定未知物的分子结构。对于复杂化合物的光谱，由于官能团间的相互影响，解析困难，可粗略解析后，再经与已知物光谱对照或查对标准光谱，或进行综合光谱解析（包括元素分析UV、NMR、MS等光谱)。

2. 有机化合物结构分析示例

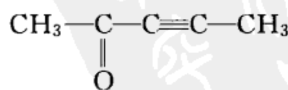
例1 某化合物3000～1600cm^{-1}区间的红外光谱如图2-22所示，判断是下述三个化合物的哪一个？



(Ⅰ)



(Ⅱ)



(Ⅲ)

解析：因为是已知范围的未知物，所以不需按光谱解析程序识别。可用否定排除方式进行判断。3300cm^{-1}为$\nu_{\equiv CH}$，Ⅰ、Ⅲ无此峰；2160cm^{-1}为$\nu_{C\equiv C}$峰，Ⅰ无此峰；2900cm^{-1}、2800cm^{-1}为ν_{-CH}峰，否定Ⅰ；1620cm^{-1}为$\nu_{C=C}$峰，Ⅲ无此峰。因此可以否定Ⅰ和Ⅲ，认定为Ⅱ。

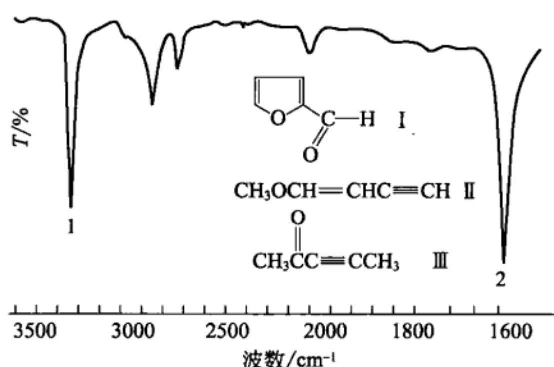


图 2-22 某未知物的红外光谱

例 2 某化合物为液体，只含 C、H、O 三元素，相对分子质量为 58，其红外光谱如图 2-23 所示。试解析该化合物的结构。

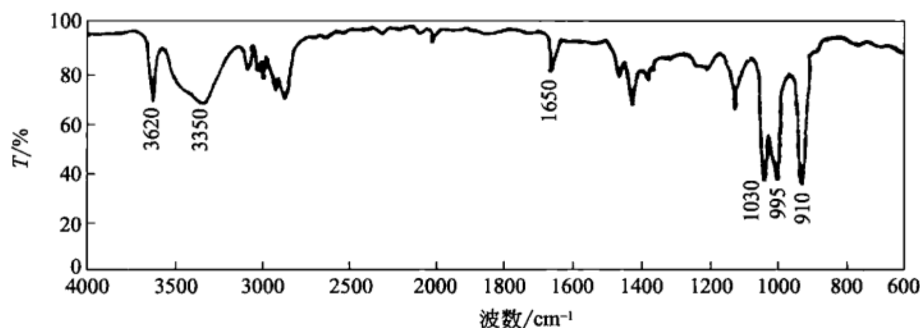


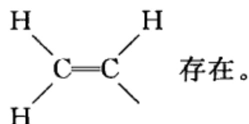
图 2-23 未知物的红外光谱

解析：由图可知，3620cm^{-1} 吸收峰表示一个游离的 ν_{O-H} 存在。而 3350cm^{-1}处的宽峰是缔合态的 ν_{O-H}，1030cm^{-1}吸收峰是醇类化合物的 ν_{C-O}。

因此分子中有 —C—O—H 结构存在。

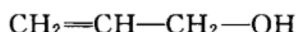
3100～3010cm^{-1}吸收带是烯基上的 $\nu_{=C-H}$ 引起的。

1650cm^{-1}吸收峰强度弱，但很尖锐，这是双键的伸缩振动吸收特征。995cm^{-1}、910cm^{-1}两吸收峰表示乙烯基中 ═C—H 键的面内摇摆振动吸收。依据以上数据可以推知，分子中有结构：



存在。

3000～2280cm⁻¹吸收峰表明 ν_{C-H} 存在。因化合物相对分子质量为 58，上述 —C(—)—O—H 的质量为 29， CH_2═CH 为 27，余下的应是两个 H 原子。故化合物结构为：



例 3 化合物分子式为 C_8H_8O，红外光谱如图 2-24。试解析其结构。

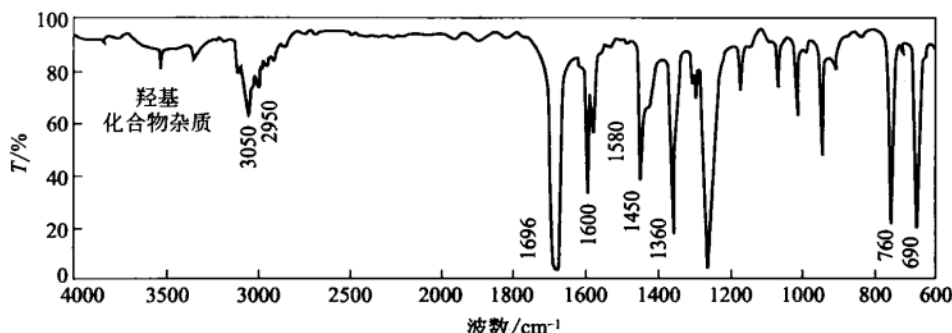
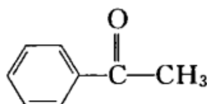


图 2-24 C_8H_8O 的红外光谱

解析：计算分子的不饱和度为 5，说明分子中有一苯环与一个双键。

3050cm⁻¹表明分子中有 $\nu_{=C-H}$ ；2950cm⁻¹是 CH_3 的伸缩振动吸收；1696cm⁻¹是 $\nu_{C=O}$ ，与酮的 $\nu_{C=O}$ 1715cm⁻¹标准值相比向低频位移，说明羰基与苯环共轭，即 Ph—C(=O)—R 结构；1600cm⁻¹、1580cm⁻¹、1450cm⁻¹是苯环的 C═C 骨架伸缩振动，而 760cm⁻¹、690cm⁻¹是苯环单取代后的 γ_{C-H} ；1360cm⁻¹是 CH_3 的变形振动。

综合上述解析的结果，该化合物的可能结构为：



二、定性分析

由于每个有机物都有其特定的红外光谱，因此红外光谱是化合物定性分析的有力工具。红外光谱定性分析包括有机物结构分析和一般的定性分析。前者由于特别重要，现已自己独立出去。后者主要包括化合物类别的定性、已知物的鉴定及在研究配合物等方面的定性应用。

1. 已知物鉴定

用红外光谱验证已知物最为方便，只要选择合适的样品制备方法，测绘其谱图，与纯物质的标准谱图相对照即可鉴定。在对照试样与纯物质的谱图（或标准谱图）时，应当注意下述问题。

（1）物态相同

同一物质状态不同，红外光谱图会发生很大变化。例如带有长亚甲基链的聚乙烯，固态在 730～720cm^{-1} 区出现双峰，而在熔融状态或溶液中只出现一个峰。峰的分裂主要是由于分子之间相互作用的结果。

（2）晶型相同

结晶形状不同，其红外光谱也不完全一致。例如 β 型氮化硅在 575cm^{-1}、440cm^{-1}、375cm^{-1}处有三个特征峰，而 α 型氮化硅则没有。

（3）溶剂相同

制备样品时常使用不同的溶剂，特别是易和溶质相作用的极性溶剂，常使红外光谱发生变化。一般情况下极性基团的伸缩振动频率随溶剂的极性增加而降低。因此，在比较含羰基、羟基、氨基等基团的化合物谱图时，尽可能采用同一溶剂，并尽量采用非极性溶剂。

（4）仔细判别

由于多种原因，在红外光谱中可能出现一些“杂峰”，在与标准谱图对照时，一定要仔细判别。例如溴化钾压片时，由于 KBr 易吸水而在 3410～3300cm^{-1} 和 1640cm^{-1}处出现水的吸收峰，大气中的二氧化碳会在 2350cm^{-1}和 667cm^{-1}处出现吸收峰。总之，要验证的样品只有红外光谱图中吸收峰位置、数目和相对强度与标准谱图一一对应时，才能认定，否则两者不是同一物质或样品中含有杂质。

2. 在配合物研究方面的应用

红外光谱可以研究配合物的结构和性质。因为配位体和金属结合形成配合物后，原来自由配位体的基频谱带受金属原子（离子）的影响和其他配位体的振动偶合作用发生位移，位移的大小与配位数、键的性质有关，配合反应的结果也会有新谱带出现。

3. 在催化吸附研究方面的应用

红外光谱在催化剂表面结构、化学吸附、吸附反应机理等方面的应用已相当广泛，是研究表面化学的一种重要工具。现以 CO 在催化剂上的吸附为例说明红外光谱在研究化学吸附方面的应用。CO 化学吸附在催化剂上意味着被吸附的 CO 分子与催化剂表面原子间形成吸收化学键。因为有新键生成，在红外光谱中就会出现新的谱带。气相 CO 在 2110cm^{-1}和 2165cm^{-1}处有双峰，当它吸附在铁上时，在 1970cm^{-1}附近出现一个宽峰。这种频率降低的现象是碳原子和金属铁表面原子成键后，使碳-氧键力常数降低的结果。

三、定量分析

1. 基本原理

红外光谱定量分析的基本原理与紫外可见光谱一样，光的吸收遵守朗伯-比尔定律关系式：

$$A=\varepsilon bc \tag{2-7}$$

式中，A 为吸光度；ε 为吸光系数；b 为样品槽厚度；c 为样品浓度。若浓度用 $mol \cdot L^{-1}$ 表示，样品槽厚度用 cm 表示，则 ε 称为摩尔吸光系数。

当红外光谱图的纵坐标用百分透光率 T 表示时，根据吸光度的定义，则式(2-7) 改写成下式：

$$A=-\lg \frac{I}{I_0}=\lg \frac{1}{T} \tag{2-8}$$

式中，I 为透过光强度；I_0 为入射光强度。

在进行计算时，ε 可预先用纯样品测定，液槽厚度可用下列公式计算：

$$b=\frac{n}{2}\left(\frac{1}{\nu_1-\nu_2}\right) \tag{2-9}$$

式中，ν_1 和 ν_2 是计算 b 时所选择的透光率最大处的波数；n 为真空密封液槽在光路中扫描后，所得干涉条纹中 ν_1 与 ν_2 间的波形个数。从红外光谱图中测得了吸光度 A，即可算出未知物浓度 c。

2. 吸光度 A 的测定

吸光度 A 的测定常用两种方法。

(1) 一点法

这种方法是忽略了背景吸收，直接从红外光谱图上的纵坐标读出分析波数处的透光率 T，按式(2-8) 计算出吸光度 A。在测定时是将补偿槽插入参比光路中，以补偿溶剂的吸收和槽窗的反射损失。

(2) 基线法

由于一点法采用的补偿并不是十分满意的，因此误差较大。为了使分析波数处的吸收度更接近真实值，常采用基线法。所谓基线法，就是用基线来表示分析峰不存在时的背景吸收线，并用它来代替记录纸上的 100%（透过）坐标。画基线有以下几种方法，如图 2-25 所示。

当分析峰不受其他峰干扰，且峰形对称时，可按图 2-25(Ⅰ) 的方法画，图中 AB 为基线，即过峰的两肩作切线。过峰顶 C 作基线的垂线，与基线相交于 E，则峰顶 C 处的吸光度用下式计算：

$$A=\lg \frac{T_0}{T} \tag{2-10}$$

如果分析峰受邻近峰的干扰，则可以作单点水平切线为基线，如图 2-25(Ⅱ) 中

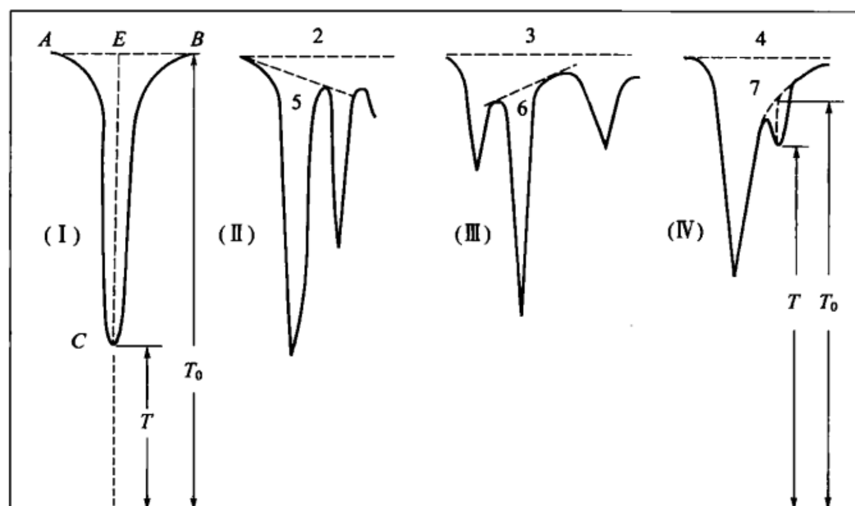


图 2-25　基线画法示意图

的 2 线。

如果干扰峰和分析峰紧靠在一起，但当浓度变化时，干扰峰的峰肩位置变化不太厉害，则可采用图 2-25（Ⅲ）中的 3 线作为基线。

如果测量的是肩峰，可根据吸收峰应是对称的原理采用图 2-25（Ⅳ）中的方法作基线，图中 7 线即为合适的基线。

对（Ⅱ）与（Ⅲ）的情况也可采用 5 线和 6 线做基线，但切点不应随浓度变化而有较大的变化。一般采用水平基线，可保证分析的准确度。

3. 定量分析方法

定量分析方法的选择与样品的性质有关，当样品中组分简单时，多采用对照法（或称补偿法）、工作曲线法。对于较复杂的样品，可采用差示法、比例法等。

(1) 补偿法

补偿法是通过比较样品光束和参比光束的强度，以抵消与所测物质无关的辐射损失，来测定样品中某物质含量的方法。其操作步骤是：先配制一个与试样溶液含量接近的标准溶液，然后在相同条件下分别测定标准溶液与样品的吸光度 $A_{标}$（标准溶液吸光度）和 $A_{样}$（样品溶液吸光度），按式(2-7) 进行计算。

(2) 工作曲线法

工作曲线法可按以下操作步骤进行。

将待测样品所含的各组分的纯物质，先分别配成不同浓度的一系列标准溶液，进行红外扫描，用基线法测定各分析波数处的吸光度 A，再以吸光度为纵坐标，以浓度为横坐标绘制工作曲线。在相同的条件下测定样品溶液的吸光度 A_X，在工作曲线上找出所测样品中组分的浓度 c_X。

工作曲线法适宜于重复性的定量分析工作，它具有简单、快速的特点，在生产控制和产品质量检验中应用广泛。

(3) 差示法

差示法是以已知浓度的标准溶液作参比溶液与待测样品的溶液相比较，测量其吸光度。当已知浓度的标准溶液与待测样品溶液浓度相同时，其透光率为100%。但实际上浓度有所不同，其吸光度差与浓度差之间有下列关系：

$$A=\varepsilon b(c_0-c_X)=\lg\frac{I'}{I} \tag{2-11}$$

式中，c_0 为已知标准溶液浓度；c_X 为待测样品溶液浓度；I'为通过参比标准溶液的光强度；I 为通过待测样品溶液的光强度。将 A 对 (c_0-c_X) 作图，可得工作曲线，从曲线上求得 c_0-c_X 后，因 c_0 为已知，即可求得待测物质的浓度 c_X。

习　　题

1. 参照红外光谱与化学结构的关系，下列区间可能属于哪一类基团？

(1) 3000～2900cm^{-1}有强吸收峰。

(2) 1800～1650cm^{-1}有强吸收峰。

(3) 2140～2100cm^{-1}有弱吸收峰。

2. 图 2-26 是一个含 C、H、O 的有机化合物的 IR 光谱图，试问：

(1) 该化合物是脂肪族还是芳香族？

(2) 是否为醇类？

(3) 是否为醛、酮、酸类？

(4) 是否含有双键或叁键？

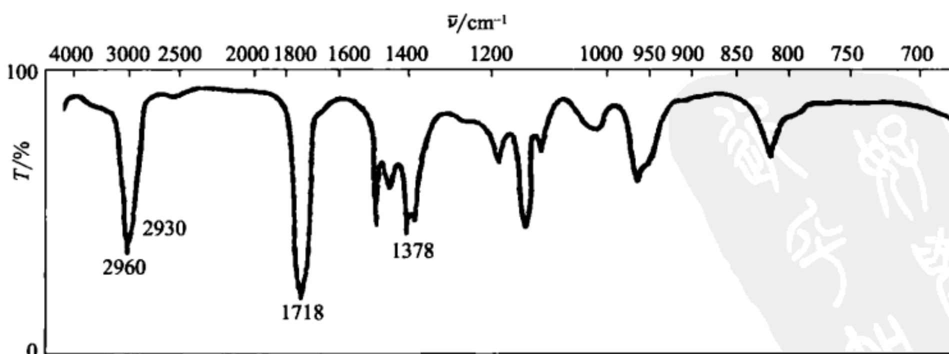


图 2-26　某有机化合物的 IR 光谱

3. 化合物为 C_7H_8，红外光谱图如图 2-27 所示。试解析其结构。

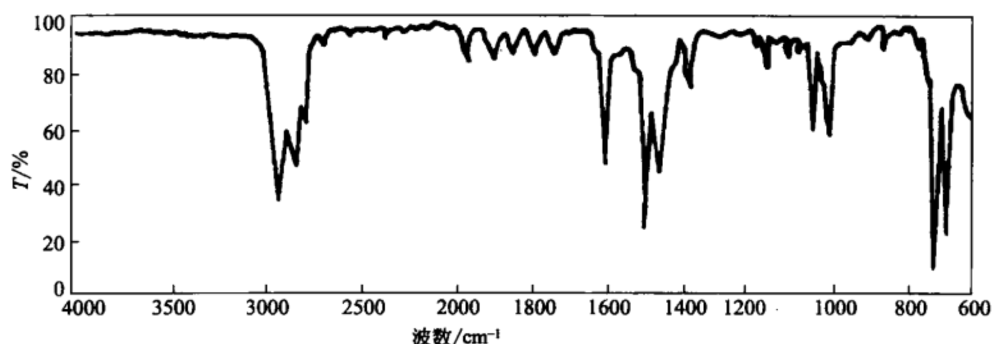


图 2-27 C_7H_8 的红外光谱

4. 图 2-28 是分子式为 $C_4H_6O_2$ 的液体化合物的红外光谱，试推定其结构。

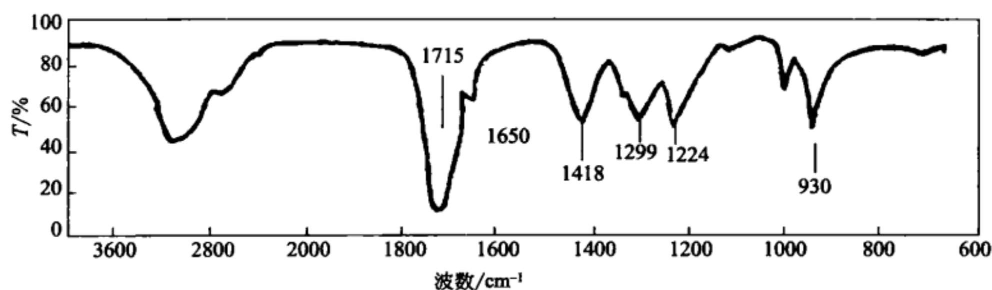


图 2-28 $C_4H_6O_2$ 的红外光谱

参考答案

1.（1）$—CH_3$、$—CH_2$

（2）$>C=O$

（3）$HC\equiv C—R$

2.（1）脂肪族化合物。

（2）不可能是醇类。

（3）不可能是羧酸和醛，可能是酮。

（4）不含双键和叁键，如果有，其结构也一定是对称的。

3. $C_6H_5—CH_3$（苯环—CH_3）

4. $CH_2=CH—CH_2—COOH$

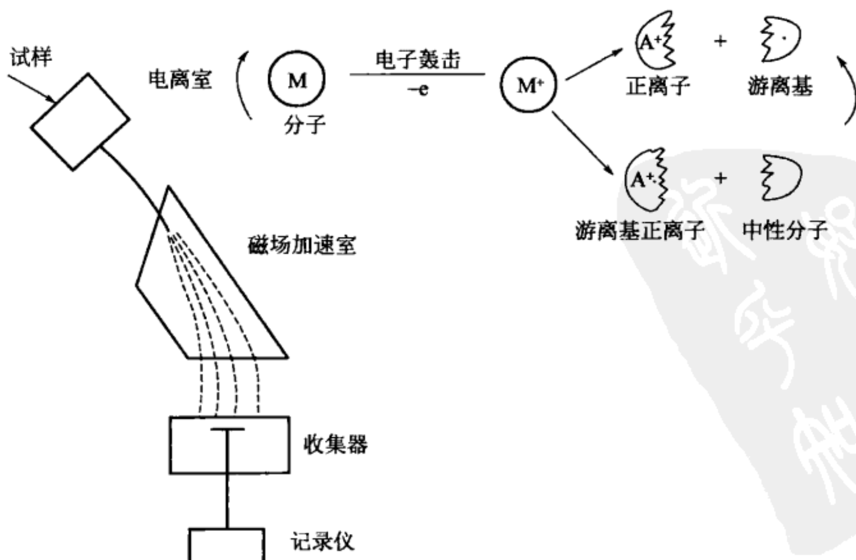
第三章　质　　谱

质谱（mass spectrum，简写作 MS）是一种表示质量的波谱，即把样品破坏后，所得结构碎片按质量大小排列而得到的谱图。通过质谱（MS）可以得知化合物的分子量以及分子结构的重要信息，从而确定出未知化合物的类别及分子组成结构。由于质谱所需的样品量极小（10^{-9}g），因此，对体内药物的分布及对某些疾病所代谢的微量物质的分析作用明显，意义也十分深远。

第一节　质谱的基本原理

质谱分析中，质谱仪是必要的。质谱仪是从分子产生离子，并按离子的质荷比（m/z）将它们分离，同时记录和显示这些离子的相对丰度的一种仪器。

就原理而言，质谱仪的功能相当简单。物质的分子在气态电离，所生成的离子在高压电场中加速，在磁场中偏转，然后到达收集器，产生一个信号，其强度与到达的离子数目成正比。然后被检出而记录下来，形成质谱图。



第二节　质谱的表示方法

原始的质谱图是由不同质荷比（m/z）的正离子尖峰组成，但目前都以条图（bar graph）的形式表示，即一条竖线就是一个峰。图 3-1 为丁酮的质谱条图。在图中，纵坐标为相对丰度，它是以强度最大的峰（称为基峰）高为100%，其余各峰按峰高比例，计算出相对的百分数。横坐标为正离子的质荷比（m/z）值。

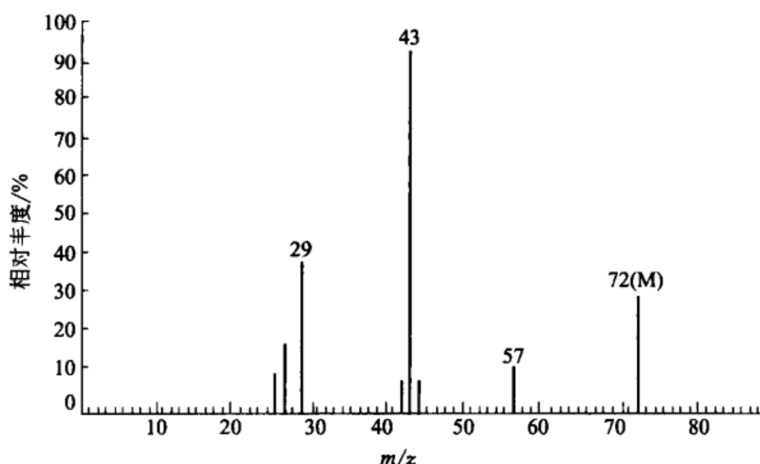
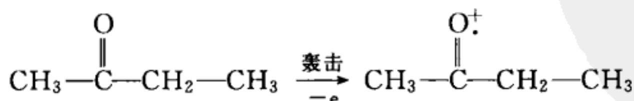


图 3-1　丁酮的 MS 谱（条图）

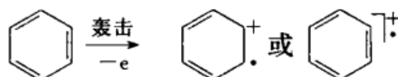
质谱中最常见的峰有以下三种。

一、分子离子峰

分子受电子流轰击，失去一个电子即为分子离子 m]$^{+\cdot}$，质谱图上对应的峰称为分子离子峰，也叫母峰，常为基本峰。不同化学键失去一个电子所需的能量不同，其次序为 σ 电子＞π 电子＞n 电子。所以在上述丁酮中，氧首先失去一个电子而形成相应的分子离子。



由 π 电子或 σ 电子形成的分子离子可表示如下：



正电荷所在位置应尽可能写清楚。当正电荷位置不清楚时，可用]$^{+\cdot}$符号

表示。

分子离子峰十分重要，一般情况下分子离子峰（m/z）即代表样品的分子量。因此在判断某峰是否为分子离子峰时，要特别注意以下几点。

① 质量是奇数还是偶数　由 C、H、O 组成的化合物，分子离子峰的质量一定是偶数，由 C、H、O、N 组成的化合物，如果 N 是偶数，分子离子峰的质量一定是偶数。如果 N 是奇数，分子离子峰的质量一定是奇数。凡不符合这一原则的质谱峰，都不是分子离子峰。

② 分子离子峰与邻近峰的质量差是否合理　这是指分子离子峰和邻近碎片峰之间的 m/z 差要合理。在假定的分子离子峰与其左侧的相邻峰之间质量差是 1、15、17、18、28、29、43 等质量单位是合理的。质量差 15 失去 CH_3，质量差 17 失去 OH 或 NH_3，质量差 18 失去 H_2O，质量差 28 失去 C_2H_4 或 CO，质量差 29 失去 C_2H_5 或 CHO。若质量差为 3～14 或 21～26 质量单位，则不合理。因为从分子中失去 3 个 H 或 CH_2 是不可能的。

③ 注意 $m+1$ 峰和 $m-1$ 峰　有些化合物（醚、酯、胺、酰胺、氰化物、氨基酸和胺醇等）的分子离子峰很小，或者根本找不到，而 $m+1$ 峰却相当大，这是分子离子与中性分子碰撞产生的，解析图谱时应注意，化合物的分子量应比该峰的质荷比少 1。

有些化合物（醛、醇和某些含 N 化合物）也常常找不到分子离子峰，而 $m-1$峰虽然不强，但还可以看到，判断分子离子峰时应注意，化合物的分子量应比该峰的质荷比多 1。

下面通过几个实例来分析如何判断分子离子峰。

图 3-2 为某化合物的质谱图，经元素分析该化合物不含 N 元素。据此可以断定分子离子峰应为偶数，而分子离子峰一般应在质谱图最高一端，所以初步判断 m/z 114 为分子离子峰，在 m/z 114 左侧的峰 m/z 71，二者相差 43 为合理。因

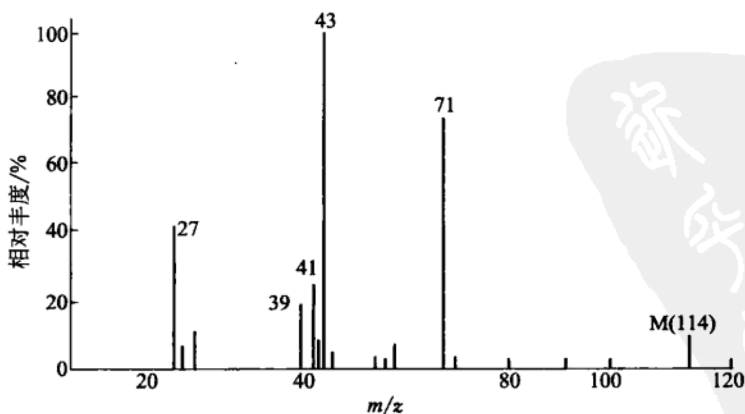


图 3-2　4-庚酮的质谱图

此该化合物相对分子质量为 114。

图 3-3 是 2-甲基-2-丁醇的质谱图，假设不知道这张图代表什么化合物，根据质谱图确定化合物的分子量。

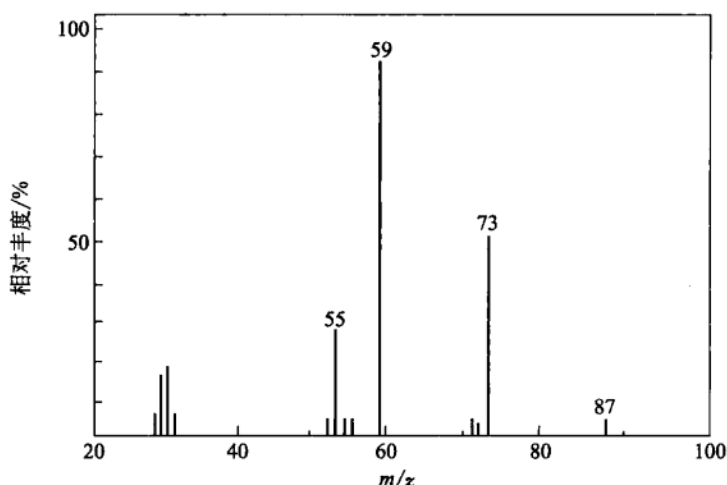


图 3-3　2-甲基-2-丁醇的质谱图

首先通过元素分析可以得知该化合物不含 N 元素，所以 m/z 87 和 m/z 73 都不是分子离子峰（奇数）。m/z 87－73＝14，m/z 73－59＝14，进一步说明 m/z 87 和 m/z 73 都不是分子离子峰，m/z 87 可能是 $m+1$ 峰或 $m-1$ 峰，若为 $m+1$ 峰，相对分子质量就为 86，m/z 86－73＝13。不合理。若为 $m-1$ 峰，相对分子质量就应为 88，m/z 88－73＝15，完全合理，m/z 73 的峰是由分子离子失去 1 个 CH_3 而产生的碎片离子峰（下面要介绍）。m/z 59 的峰是由分子离子失去一个 C_2H_5 产生的碎片离子峰。因此可以断定该化合物的相对分子质量为 88。

二、碎片离子峰

碎片离子是指分子离子再经电子轰击产生的带正电荷的小碎片。碎片离子峰的质荷比及其相对丰度对研究分子结构非常重要。

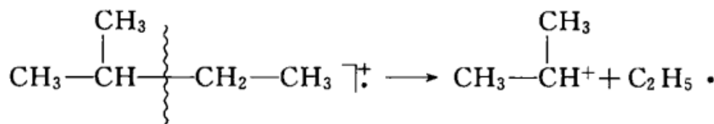
分子离子在质谱中按其特有的规律裂解成碎片离子、自由基或中性分子。有机化合物的结构支配着碎片离子的形成，裂解总是趋向于形成较稳定的离子。裂解类型有单纯裂解和重排裂解。

1. 单纯裂解

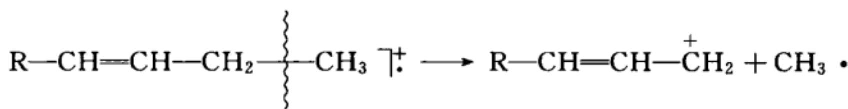
仅有一个键发生断裂，脱去一个自由基，产生一个较稳定正离子的裂解叫单纯裂解。根据共价键的断裂位置把单纯裂解分为三种，即形成稳定碳正离子的裂

解、α-裂解和β-裂解。

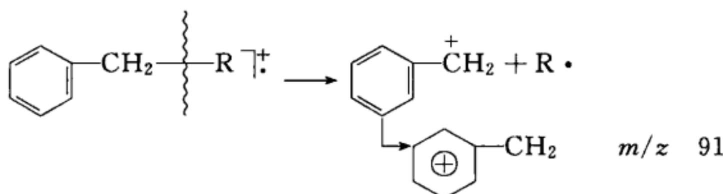
① 形成较稳定碳正离子的裂解　烷烃的裂解使正电荷留在支链较多的碳原子上，反应式中单箭头代表1个电子转移。



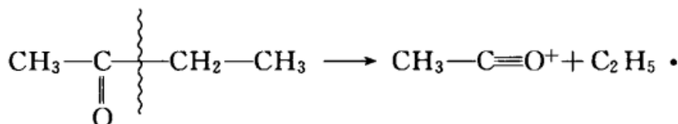
烯烃的裂解主要形成烯丙基碳正离子。



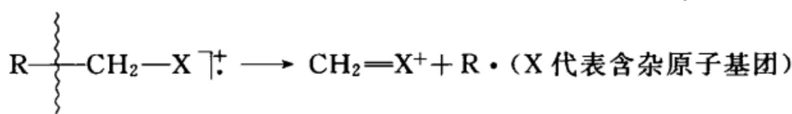
支链芳烃、含有支链的芳醛、芳酮等的裂解主要形成苄基碳正离子。

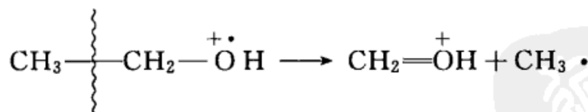


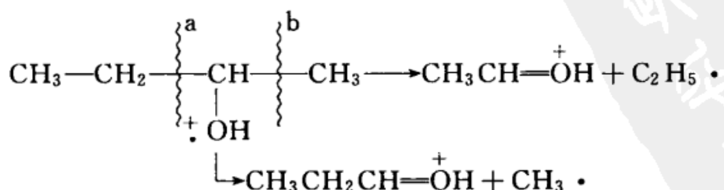
② α-裂解　含有羰基的化合物（醛、酮、羧酸、酯和酰胺）易发生α-裂解，并且主要在较大基团和羰基之间断裂。



③ β-裂解　含有杂原子的化合物（醇、胺、醚等）易发生β-裂解。





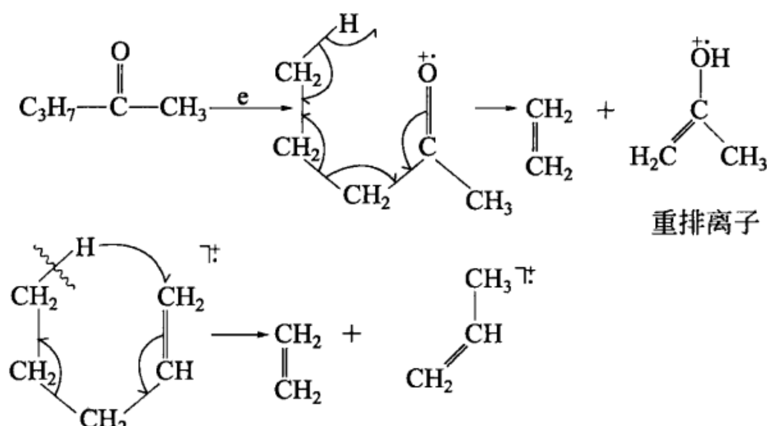


2. 重排裂解

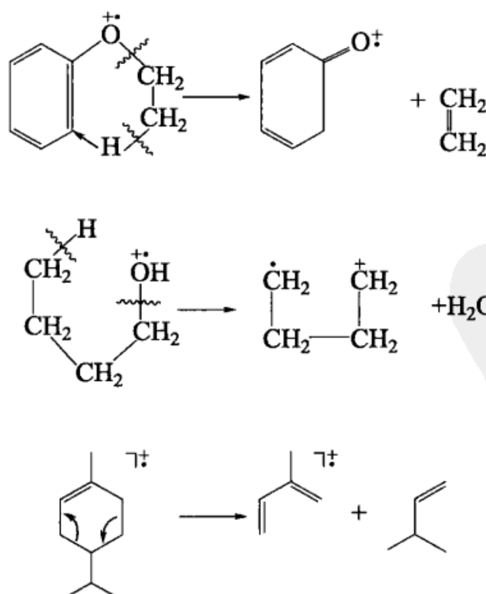
重排裂解一般要发生多个键的断裂。在脱去一个中性分子的同时，发生分子重排。这种裂解，一般要经过稳定的环（六元环）迁移状态。最主要的重排裂解

有两类，即麦克拉夫梯（Mclafferty）重排裂解和逆狄尔斯-阿德尔（Retro Diels-Alder，也称 RDA）重排裂解。

① 麦氏重排在醛、酮、链烯、酰胺、酯类（乙酯以上的酯）、腈、芳香族化合物等的质谱中都可找到由于这种重排而产生的离子峰。这类反应的大致过程是 γ 位的氢向缺电子的原子转移，然后引起一系列的单电子转移，并脱掉一个中性分子。例如：



② RDA 开裂易发生在具环己烯结构的化合物中，在脂环化合物、生物碱、萜类、甾体和黄酮等质谱图中经常可找到由这种重排而产生的碎片离子峰。



下面通过一个实例，分析如何根据质谱图中碎片离子峰判断化合物的结构。

图 3-4 是一张未知物的质谱图，根据 IR 谱已知 $1690cm^{-1}$ 处有 $\rangle C{=}O$ 的吸收峰，在 $3000cm^{-1}$ 处无羧基的 ν_{OH} 宽而强的吸收峰，证明不是羧酸，用化学方法也很容易证明不是醛。根据质谱图解析 m/z 72－57＝15，m/z 72－43＝29 均为合理，而只含 C、H、O 的化合物分子量必为偶数，所以判定 m/z 72 是分子离子峰。根据相对分子质量 72 可以初步推断此未知物分子式为 C_4H_8O。可能的化合物为丁酮。但不确定，如果假定为丁酮，则裂解的碎片离子为：

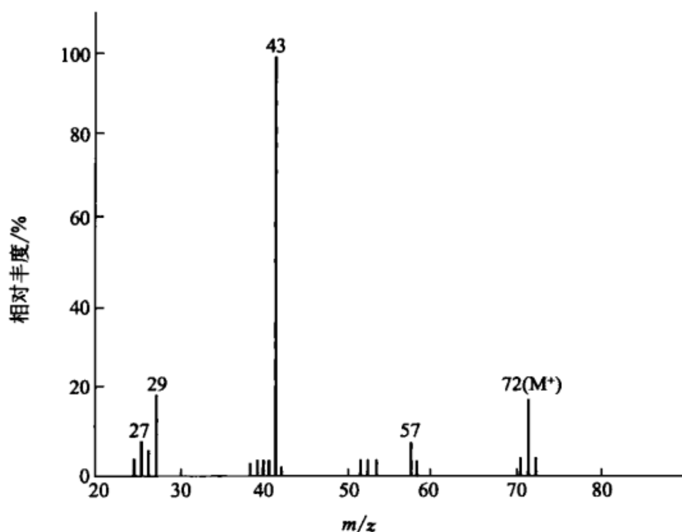
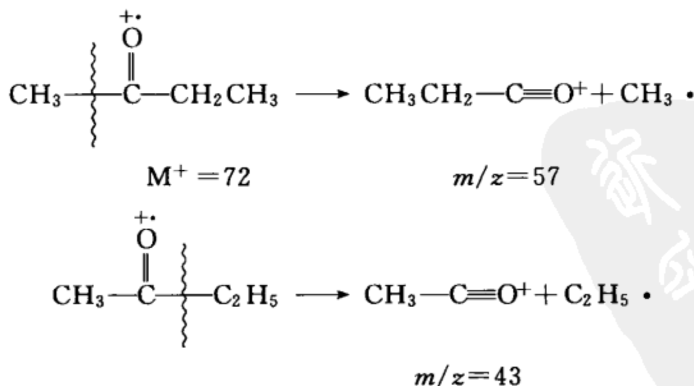


图 3-4 未知物的质谱图



从质谱图中可清楚地看到有 m/z 57，m/z 43 两个条形碎片离子峰。据此可以确定该化合物为丁酮。

从上面的讨论可以看出，解析质谱图首先要确定分子离子峰，然后根据碎片

离子峰和分子离子峰的关系研究化合物的裂解规律，最终获得较全面的结构信息。

三、同位素离子峰

有机分子中的C、H、O、N、S、Cl、Br等元素均有重同位素。因此在质谱中除分子离子峰（m）外，还会出$m+1$和$m+2$等同位素峰。同位素峰的强度是与分子中含该元素原子的数目以及该重同位素的天然丰度有关。表3-1为常见同位素的丰度比。

表3-1　几种常见同位素的丰度比

同位素	$^{13}C/^{12}C$	$^{2}H/^{1}H$	$^{17}O/^{16}O$	$^{18}O/^{16}O$	$^{15}N/^{14}N$	$^{33}S/^{32}S$	$^{34}S/^{32}S$	$^{37}Cl/^{35}Cl$	$^{81}Br/^{79}Br$
丰度比/%	1.08	0.016	0.04	0.20	0.38	0.78	4.40	32.5	98.0

从上表可见，^{34}S、^{37}Cl、^{81}Br与各自对应轻同位素的丰度比相当大。因此含有这几个元素的化合物，其$m+2$峰特别强。例如分子中有一个Cl，则$m:m+2$的强度比约为3∶1；若分子含一个Br，则$m:m+2$的强度比约为1∶1，即二者几乎相等。图3-5为一溴甲烷的质谱，因分子中有一个Br，可见有两个强度相近的同位素峰。图3-6是C_2H_5Cl的质谱，其$m:m+2$约为3∶1。

由此可见，通过同位素峰的相对强度比就很容易判断化合物中是否含有S、Cl、Br等元素。

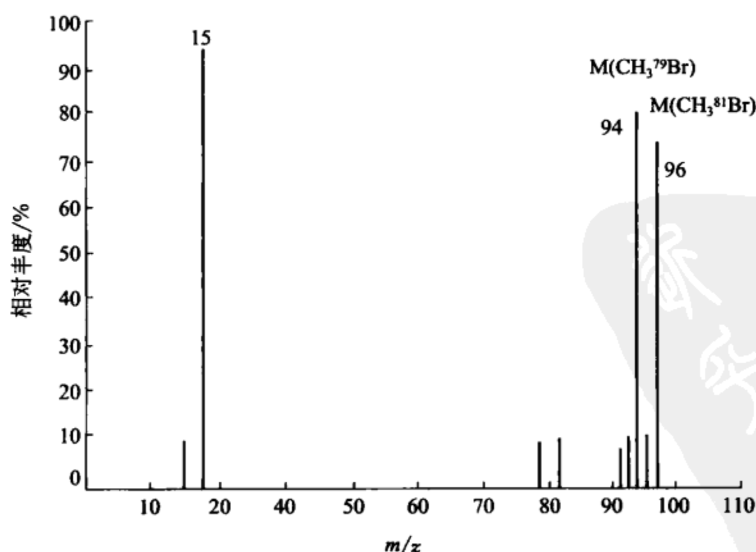


图3-5　一溴甲烷的MS谱

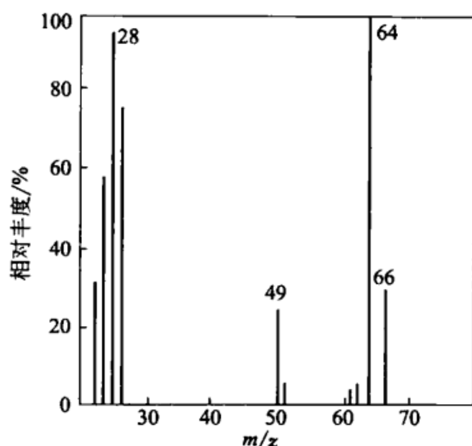


图 3-6　氯乙烷

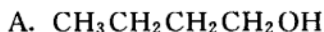
第三节　质谱的综合分析

单靠质谱（MS）一般难以确定化合物的结构，需要与 UV、IR、NMR 图谱综合分析才能确定化合物的结构。但是利用质谱可以确定分子量，并且能够为确定结构提供许多重要信息，或者为确定结构提供佐证。

解析质谱的一般步骤是，首先找出分子离子峰确定分子量，根据分子量和其他图谱确定分子式，然后研究分子离子与碎片离子之间的关系，再根据裂解规律确定化合物可能的结构。

图 3-7 是某一元醇的质谱图，如何确定该化合物的结构？

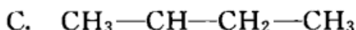
首先确定分子量和分子式；图中 m/z 74 与其邻近峰 m/z 56 的差值为 18，是合理的。只含 C、H、O 的化合物，分子离子峰的质荷比为偶数，醇的分子离子峰很弱，这些都符合质谱规律。确定 m^+ 为 74，即相对分子质量为 74。设想可能的结构如下：



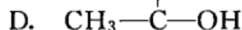














根据质谱裂解规律确定化合物的结构。

B 的裂解（β-裂解）

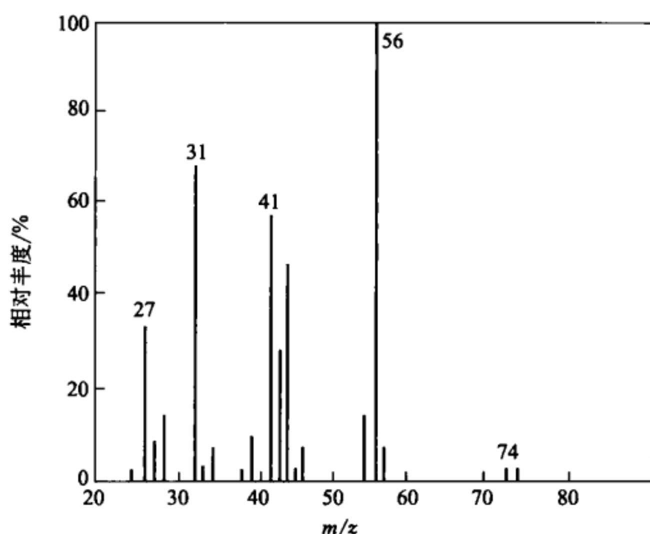
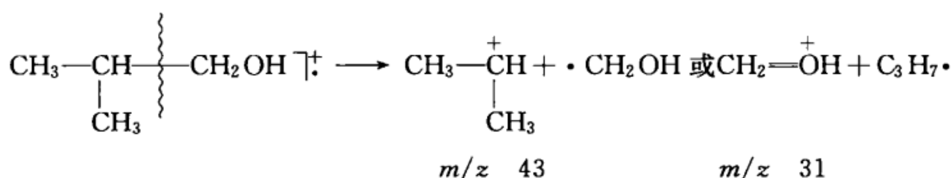
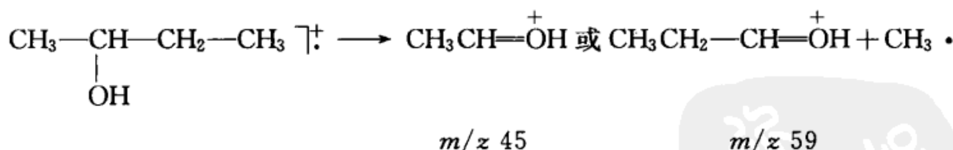


图 3-7　未知物的一元醇质谱图



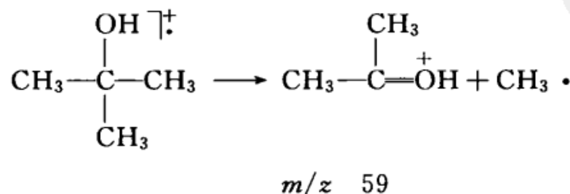
根据β-裂解的规律，B 结构应出现很强的 m/z 43 峰，并且 m/z 43 峰应该比 m/z 31 峰强，但是图 3-7 中，m/z 43 的峰弱，并且比 m/z 31 的峰还弱，这说明 B 的结构与质谱图不符。

C 的裂解（β-裂解）

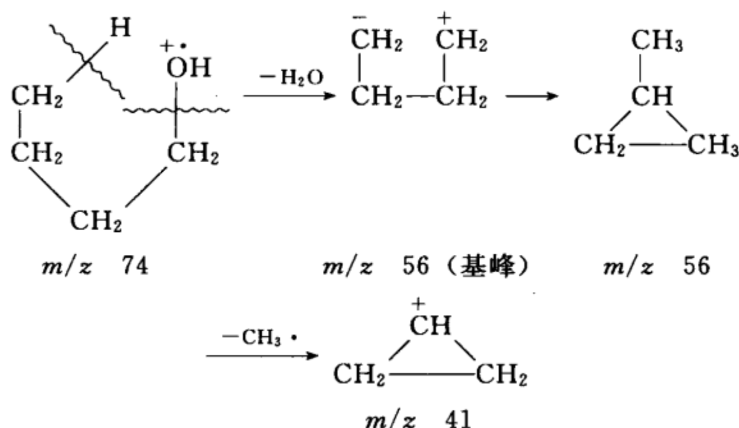


C 结构应出现强的 m/z 45 的峰，但图 3-7 中几乎看不到这个碎片离子峰，说明 C 与质谱图也不相吻合。

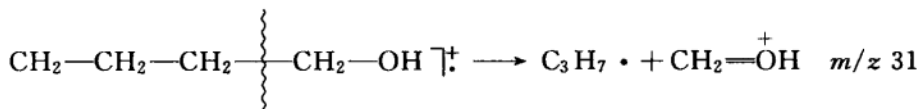
D 的裂解（β-裂解）



D结构应出现很强的 m/z 59 的峰，但从图上也几乎看不到这个峰，说明D结构也不符合质谱图。这样只有A才有可能是质谱图上所代表的化合物了。分析一下A裂解的碎片离子是否合理呢？A是正丁醇，有 δ-H，可以形成六元环过渡态，易发生麦克拉夫梯重排裂解。



从图3-7中看出，基峰为 m/z 56，这与正丁醇的裂解完全一致，而且 m/z 41的峰也较强。这是由于基峰碎片离子进一步裂解成 $\overset{+}{C}H$（CH_2—CH_2 环）m/z 41所致，同时A还可以发生 β-裂解：



在图上存在着 m/z 31的较强峰，所以最终确定图3-7所代表的化合物为A正丁醇。

第四节 质谱在生物医学中的应用

一、药物分子量的测定

随着生物医学工程的迅猛发展，新兴生化药物也得以广泛应用。目前使用的生物制剂多以生物大分子组成，如：蛋白质、肽、酶等。其分子量一般都在几万至几十万。分子量大是其显著的特点。

应用MS技术，可以准确测定这些生物制剂的分子量。这是因为质荷比中的正电荷数常为1，所以分子离子峰的 m/z 数值就是分子量的值。这是目前精确测定大分子药物分子量的最好方法。

二、新药分子结构的确定

在新药的开发研究中，一个十分重要的环节就是如何确定药物的分子结构。通过 IR 和 NMR 等技术可以初步确定药物结构，如果在此基础上，配合 MS 技术，通过对碎片离子峰的分析，可以进一步准确得出新药的分子结构。特别是高分辨率质谱仪的出现，使测定分子离子和碎片离子质量的精确度极高，能分辨出小数后四位以下的质量单位。如：一个质量数 66 的离子，实测 m/z 值为 66.0549，按 C = 12.0000、H = 1.0078、N = 14.0031、O = 15.9949、S = 39.7921 相对原子质量的排列组合，可能的分子式有 C_5H_6 = 66.0468、C_4H_2O = 66.0125、C_4H_4N = 66.0343、$C_3H_2N_2$ = 66.0218、C_3NO = 65.9980、C_2N_3 = 66.0093，其中 C_5H_6 = 66.0468 最为可能。当应用高分辨率并带有电子计算机的质谱仪时，直接就能报告出质谱中的分子离子或碎片离子的质荷比、丰度、分子式。不仅准确性高，而且节省时间，为解析质谱提供了方便。

三、分析人体皮肤表面的异构脂肪酸

由皮肤表面形成的产物提供一个窗口，通过它洞察内部的新陈代谢，如同血液或尿的排泄物意义那样。反常的新陈代谢——必然也由这些排泄物多少反映出来：如某些组分增加或降低，或被其他组分代替。因此，皮肤排泄物对临床诊断是有极大潜力的。

人体皮肤表面的类脂化合物是特别容易取得样品的。只需用溶剂浸泡的棉花把表面擦干净，或把皮肤浸泡在溶剂中数分钟，即可获得适当的分析样品。人体皮肤表面类脂化合物的独特性与体内组织的类脂化合物相比，具有惊人的特征。

如图 3-8 可以看出处于病态及正常时皮肤表面类脂的变化，从而为临床诊断提供佐证。

四、监测毒品在体内的代谢变化

随着毒品对人们生活健康的影响增加，毒品问题也日益引起医学界的广泛重视。如何快速鉴定人体生理试样中抽提的小于微克（10^{-6}g）级的未知物是毒品学者每天遇到的最困难的问题。

下面通过几例实验情况，分析 MS 在毒品监测中的重要作用。

① 一个 41 岁的男子被发现死于家中浴室的地板上，身边有一支粗制的注射器针头、汤匙等物。需要注意的是，只要服用麻醉剂或有海洛因瘾的人在体内至少会有痕量的吗啡。

在这个特殊的情况下，MS 指出在血液、胆汁及尿中都含有可待因（图 3-9）或吗啡，由此证实男子死于毒品。

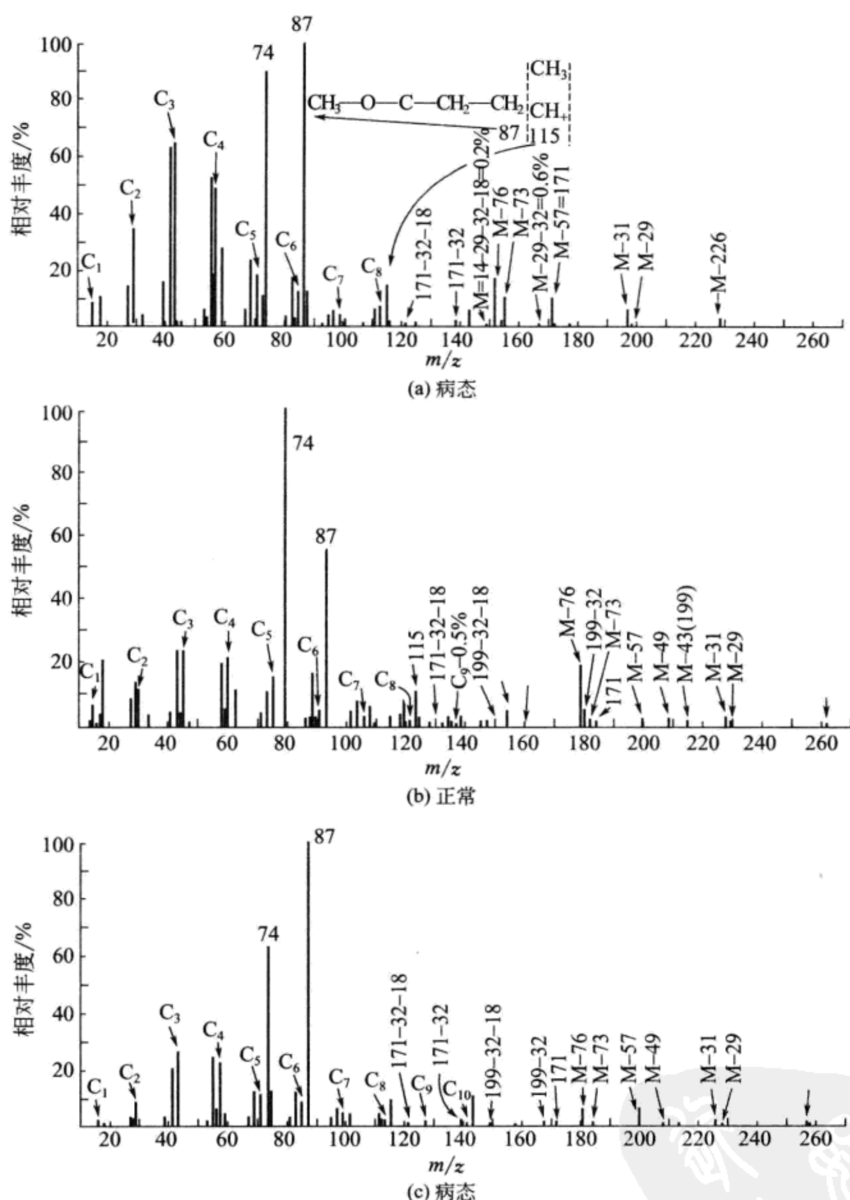


图 3-8 (a) 9 号扫描的质谱图；(b) 18 号扫描的质谱图；(c) 28 号扫描的质谱图

② 一个 25 岁的男子由于在繁忙的高速公路上无规则地超速行驶，被巡警阻止。他是一个送货人，承认服了“提神药”．但感觉良好。这个嫌疑犯且有酒醉的症状，谈话不清，其步履蹒跚，通过 MS 监测其血液及胆汁中含有巴比妥类药物及吗啡（如图 3-10、图 3-11）。

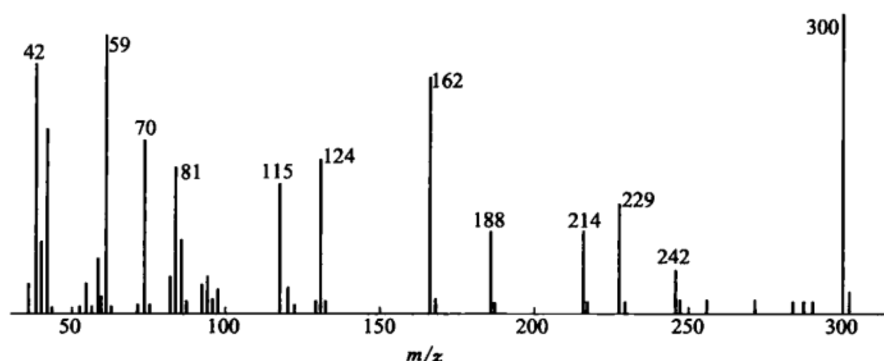


图 3-9　由尿抽提物质谱分析中得到的可待因质谱图

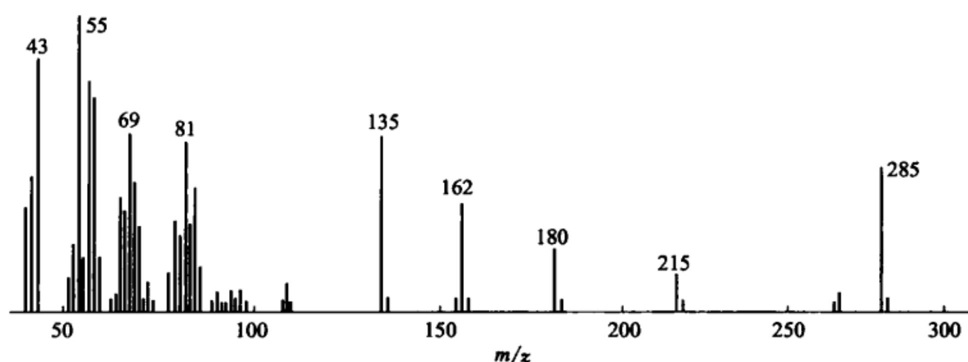


图 3-10　胆汁抽提物的色谱质谱分析中所获得的吗啡质谱图

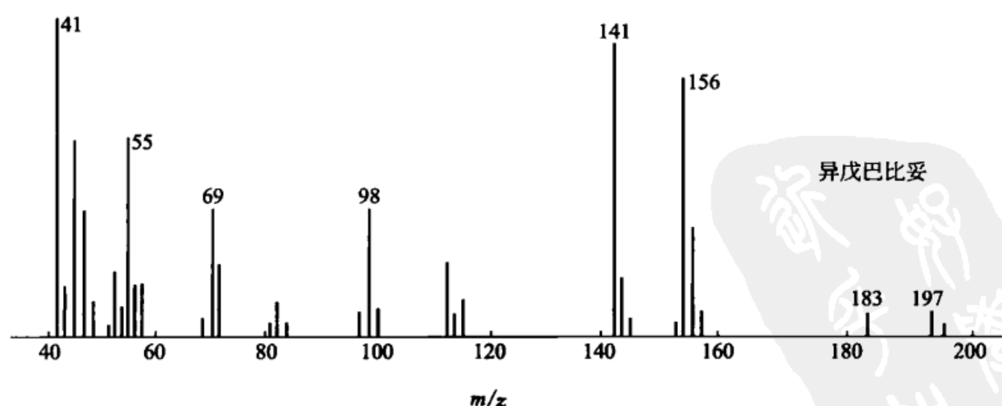


图 3-11　血样中所获得的异戊巴比妥质谱图

现已证实，MS 技术在分析毒物学上是最适用的工具，它正日益对药物及其代谢物的毒性和生理处置给出有效的数据，提供治疗的依据。

习　　题

1. 某化合物 $C_6H_5-\underset{\displaystyle CH_3}{CH}-CH_2-CH_3$ ，质谱图如图 3-12 所示，请给出图中峰的裂分离子 m/z 的结构，指出 M 峰。

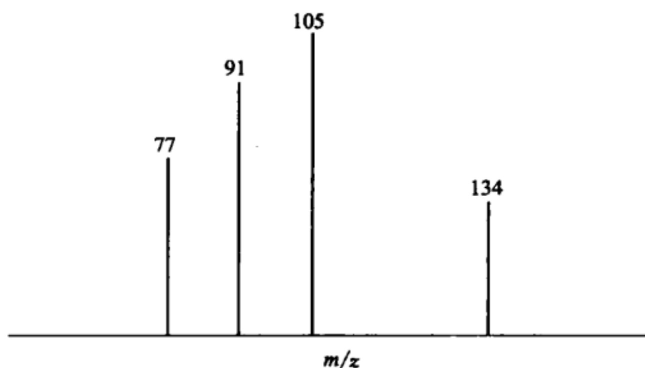
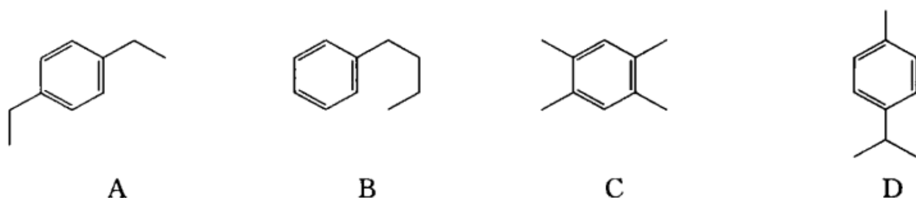
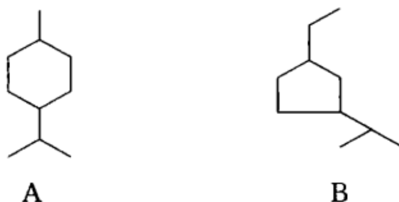


图 3-12　某化合物的质谱图

2. 某芳烃（M=134），质谱图上 m/z 91 处显示有一强峰，试问其结构可能为下列化合物中的哪一种？



3. 某化合物疑为 A 或 B，质谱图上给出 m/z 97 及 m/z 111 处有两个强吸收离子峰，该化合物为以下哪一结构？



4. 某化合物的 IR 在 $1700cm^{-1}$ 处有强吸收。NMR 在 δ 为 9～10 处无吸收峰。从 MS 知其基本峰 m/z 为 57，无 m/z 为 43 及 71 的峰。由 $m+1/m$ 和 $m+2/m$ 的数据查得分子式 $C_5H_{10}O$，试确定此化合物的结构式。

5. 在 MS 中识别分子离子峰十分重要，请问：

(1) 分子离子（M^+）若是烃，可能有奇数的 m/z 值吗？

(2)（M^+）若只含有 C、H、O，其 m/z 是奇数还是偶数？

(3)（M^+）若只含有 C、H、N，其 m/z 是奇数还是偶数？

6. 化合物 $C_{10}H_{12}O$ 的 MS（图 3-13）中有 m/z 为 15、43、57、91、105、148 的峰，试写出这些离子和化合物的结构式。

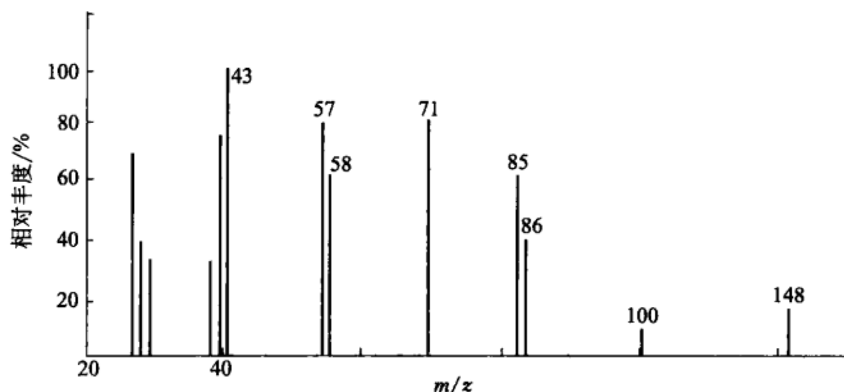
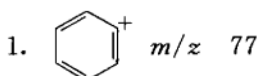


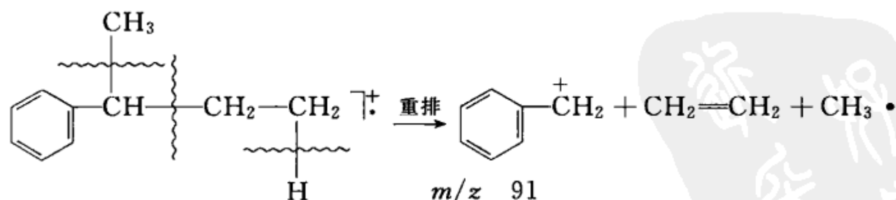
图 3-13　$C_{10}H_{12}O$ 的质谱图

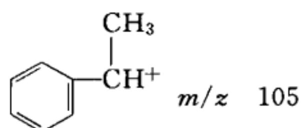
7. 简述 MS 在生物医学中的应用。

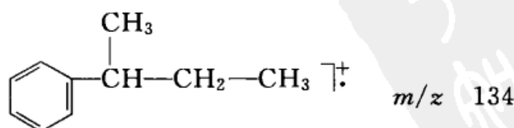
8. 正己烷的质谱（MS）中有显著的 m/z 为 86、43 和 42 的峰，这些离子可能的结构如何？

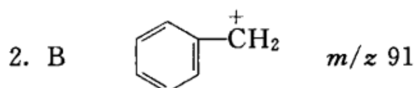
参考答案

1. 

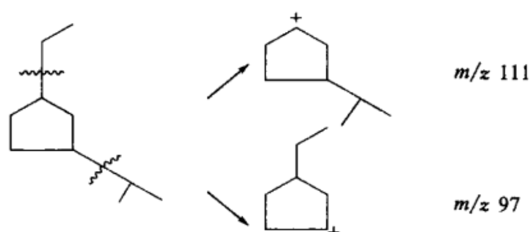




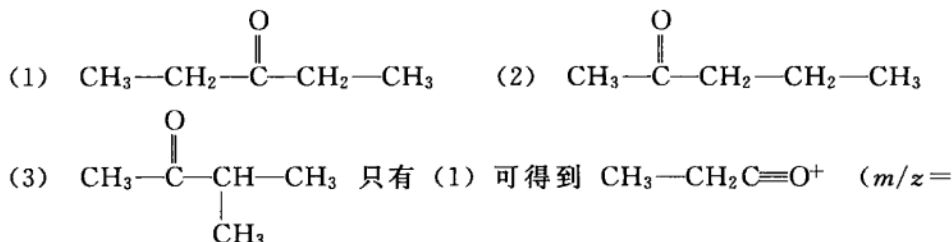


2. B 

3. 结构为 B



4. 从分子式知其不饱和度为 1，$1700cm^{-1}$的吸收峰表明有 C═O，没有 δ 9～10 的峰表明不是醛而是酮。可能的结构：



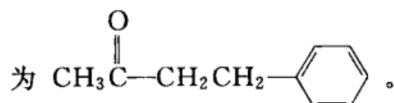
(1) $CH_3-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_3$　(2) $CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-CH_3$

(3) $CH_3-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\underset{CH_3}{\underset{|}{CH}}-CH_3$ 只有 (1) 可得到 $CH_3-CH_2C\equiv O^+$ ($m/z=$ 57)，因此结构式为 (1)。

5. (1) 不可能，因 C_nH_{2n+2}、C_nH_{2n}、C_nH_{2n-2}、C_nH_{2n-6} 等总有偶数 H，而 C 为 12，故 m/z 总为偶数。

(2) 分子式中有 O 存在，不能改变 C、H 比例，而 O 为 16（偶数），故 m/z 总为偶数。

(3) 分子式中有 N 存在，因而 M^+ 含奇数个 N 时，其中含 H 必为奇数，故其 m/z 为奇数，含偶数个 N 时，m/z 必为偶数。

6. m/z 15 表明是 CH_3，而 43－15＝28 正是 C═O 的质量，故 43 意味着是乙酰基 CH_3CO^+，最高峰 148 是相对分子质量。分子结构为 。

7. (略)

8. $CH_3-(CH_2)_4-CH_3$ 的 M^+ 质量为 80，裂为一半成为 $CH_3CH_2CH_2$ 的质量是 43，质量为 42 的碎片可得是由链的当中来的三个 CH_2 组成，即 $CH_2CH_2CH_2^+$。

第四章　核磁共振

核磁共振（nuclear magnetic resonance，NMR）是根据有磁矩的原子核（如^{1}H、$^{13}_{6}C$、$^{19}_{9}F$、$^{31}_{15}P$），在磁场的作用下，能够产生能级间跃迁的原理，而采用的一种新技术。早在 1945 年，F. Block 和 Purcell 两个小组几乎同时发现了核磁共振现象，为此获得 1952 年诺贝尔物理奖。此后核磁共振在有机化学、生物化学、药物化学、生物医学等领域以及工业、医疗等许多部门逐步得到广泛应用。特别是近二十多年来，随着高分辨率仪器的不断开发利用，核磁共振谱配合紫外、红外、质谱等，可以很快确定一个化合物的结构。目前较常见^{1}H NMR 和^{13}C NMR最常用于有机物结构的鉴定，^{31}P NMR 则主要用于生物化学、分子生物学、细胞代谢及核酸结构等方面的研究。本章主要介绍^{1}H NMR，对其他相关知识做简要介绍。

第一节　核磁共振基本原理

一、核磁共振仪简介

核磁共振波谱类似于红外或紫外光谱法，基本上是吸收光谱的另一种形式，在适当条件下，样品能够吸收射频区电磁辐射，吸收频率取决于样品的特性且随分子中某一给定核而改变。吸收峰的频率对吸收强度作图构成 NMR 图谱。

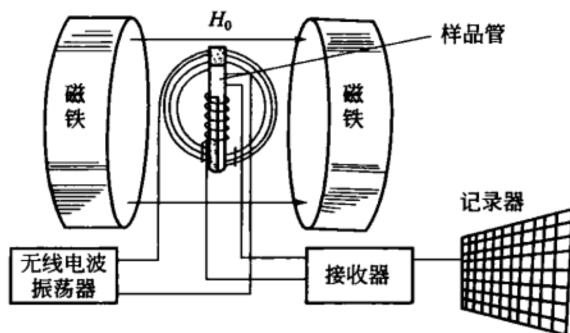


图 4-1　核磁共振仪示意图

图 4-1 为核磁共振仪示意图。样品管放在磁铁两极之间，其周围环绕着无线电波振荡器的线圈，其轴垂直于磁场，接收器线圈的轴既垂直于无线电波振荡器的轴，又垂直磁场方向，因而三者互相垂直，不互相干扰。

用固定频率的无线电波照射，则磁场强度略有增加。当

磁场强度达到一定值 H_0，使 $\nu=\frac{\gamma}{2\pi}H_0$（由 $h\nu=\Delta E=\gamma\frac{h}{2\pi}H_0$ 导出），式中 ν 值恰好等于照射频率时，样品中某一类型的质子发生能级的跃迁，接收器就会接收到信号，记录下来，如图 4-2 所示。

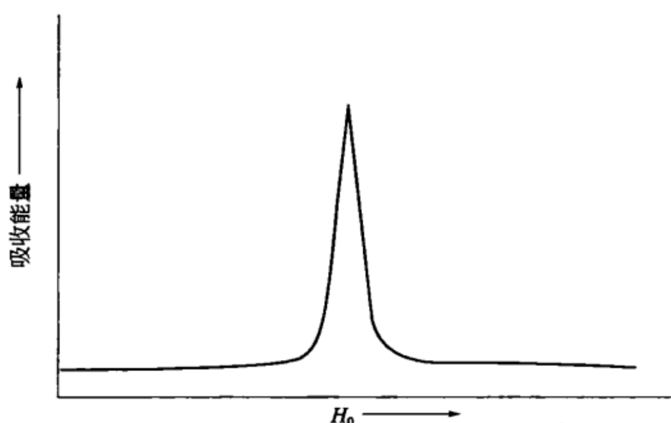


图 4-2 核磁共振信号的出现

二、原子核的自旋与共振

核磁共振的研究对象为具有磁矩的原子核。原子核除有质量、电荷外，还具有自旋这一重要的特性。具有自旋的原子核在磁场中因自旋状态不同而在能量上有所差异。核磁共振是原子核在吸收电磁波后，从一个自旋能级跃迁到另一个自旋能级而产生的波谱。在磁场中自旋的原子核，因磁感应而产生不同的能级，能级较低的核吸收具有相应能量的射频向高能级跃迁的现象，称为核磁共振(NMR)。

^{1}H 和 ^{13}C 的原子核有自旋，在磁场中原子核自旋产生的磁矩与外加磁场（其强度为 H_0）相互作用而分成两个能级，一个是与外加磁场取向相同的稳定能级（E_1），另一个是与外磁场取向相反的不稳定能级（E_2）。这种相互作用的能量 E 表示如下：

$$E=I\gamma\frac{h}{2\pi}H_0$$

式中 h——普朗克常数；

γ——磁旋比（由核决定的常数）；

I——核自旋，对 ^{1}H 核和 ^{13}C 核都是 $\frac{1}{2}$。

因此上式可转换成

$$E=\gamma \frac{h}{4\pi}H_0$$

其稳定状态与不稳定状态之间的能级差（ΔE）为

$$\Delta E=E_2-E_1=\gamma \frac{h}{4\pi}H_0-\left(-\gamma \frac{h}{4\pi}H_0\right)=\gamma \frac{h}{2\pi}H_0$$

此时当用一个能量 $\Delta E=h\nu$、频率 ν_0 的电磁波作用时，氢核吸收该电磁波能量，从稳定能级 E_1 跃迁到不稳定能级 E_2 即发生共振，这就是核磁共振现象。其频率与磁场之间存在以下关系。

$$\Delta E=h\nu_0=\gamma \frac{h}{2\pi}H_0$$

$$\nu_0=\frac{\gamma}{2\pi}H_0$$

这表明，发生共振的电磁波频率与外加磁场的强度成正比（表 4-1），即当外加磁场的强度从 H_0 增大到 H_0^1 时，电磁波频率由 ν_0 增大到 ν_0^1。

表 4-1　外加磁场与共振频率的关系

外加磁场强度/Gs	^{1}H 核发生共振吸收时电磁波的频率/MHz	^{13}C 核发生共振吸收时电磁波的频率/MHz
14000	60	15
21140	90	22.6
23500	100	25.2

注：1Gs＝10^{-4}T，下同。

例如在 23500Gs 的外磁场下，需 100MHz 的射频。由此可见射频是处在无线电波频段。由于仪器的灵敏度与外磁场强度成正比，因此随着核磁共振技术的不断进步，核磁共振仪由最初的 60MHz、100MHz 发展至今已有 800MHz 以上的高分辨仪器出现。

为获得核磁共振谱，可用两种方式。其一是固定外磁场 H_0，用一种连续不断改变频率 ν 的电磁波对样品进行扫描，以达到共振条件，称为扫频。其二是固定照射频率 ν，调节磁场强度 H_0，并对样品进行扫描，以达到共振条件，称为扫场，扫场当前通用。

第二节　核磁共振的主要参数

一、化学位移与信号位置

有机化合物的原子核周围都有电子。当原子核周围的电子经外加磁场作用时，电子对于所加外部磁场在垂直的平面内发生循环，产生与外加磁场方向相反

的感应磁场。高分辨核磁共振主要是研究同种磁性核在外磁场作用下产生共振的微小变化，这些变化来源于核的磁屏蔽。任何原子核都不是裸露的，它的外围被电子所包围。当外磁场的磁力线通过核时，按照楞次定律，核外电子在外磁场作用下产生环电流，并感应形成方向与外磁场方向相反的第二磁场。这种对抗外磁场的作用称之为磁屏蔽。在化合物分子中，化学键也是一种核外电子流，同样会产生磁屏蔽。每一个化合物都会有不同的基团，以 H 质子为例，它存在于化合物的不同基团中，它们的化学环境不同，感受到的实际磁场也不同。在^{1}H NMR 谱中，每一种化学环境不同的质子都可观察到不同的信号，而表示这种不同质子的信号吸收峰的位置与参比物质子吸收峰位置之间的差别，称为该质子的化学位移。通常用的参比物是四甲基硅烷 $Si(CH_3)_4$（TMS），它具有下列优点：化学惰性，磁性各向同性，易于挥发（bp 27℃），并能溶于许多有机溶剂中，它只给出一个很窄的吸收峰，其位置出现于较高磁场，在谱图的最右端，比几乎所有的有机物中的质子吸收位置都高。不同氢核共振时外磁场强度的差异极其微小，要准确测出其绝对值是很困难的，因此通常都用相对值来表示。就是以某参比物为原点，作为核磁共振谱的坐标，测出各峰与原点的相对距离，借此表示各类氢核所处化学环境的不同化学位移，用 δ 表示。

$$\delta=\frac{\nu(\text{样品})-\nu(\text{参比物})}{\nu(\text{射频})}\times 10^6$$

由于样品和参比物的 ν 单位是 Hz，而射频 ν 的单位是 MHz，分子、分母单位不同，故人为地乘以 10^6，以方便使用。

根据 δ 的定义，$\Delta\nu$[即 ν(样品)$-\nu$(参比物)] 与 ν（射频）成正比，若使用不同照射频率的仪器，同一氢核 δ 值不变。

例如，在 60MHz 仪上测的 $\Delta\nu$ 为 60Hz，

则 $\delta=\frac{60\text{Hz}}{60\text{MHz}}\times 10^6=1$

若在 100MHz 仪上测的 $\Delta\nu$ 为 100Hz，

则 $\delta=\frac{100\text{Hz}}{100\text{MHz}}\times 10^6=1$

由此可见二者的 $\Delta\nu$ 虽然不同，δ 值却一样。即仪器所用照射频率越高，每一个 δ 值相当的 $\Delta\nu$ 也越大，两个信号之间的距离就越远。这样有利于使原来在低兆赫仪上重叠、交错在一起的信号拉开，提高分辨率。早期的文献曾用 τ 值表示化学位移。现在 IUPAC（International Union of Pure and Applied Chemistry）已建议一律采用 δ，并规定 TMS=0，常见氢核的 δ 值范围为 0～10。

二、峰面积（信号强度）与氢核数目

在^{1}H NMR 图谱上，各吸收峰下包括的面积与引起各该吸收的氢核数目成

正比。如在 CH_3CH_2Br 的图谱中，如图 4-3。

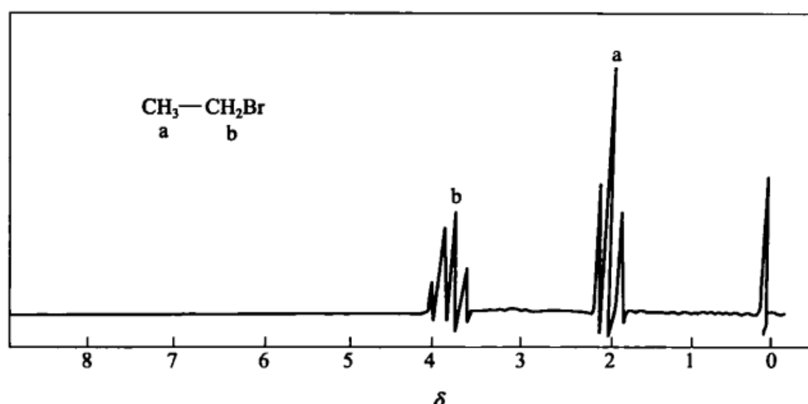


图 4-3 CH_3CH_2Br 的 NMR 谱图

峰面积比为—CH_3 峰与—CH_2 峰比，为 3∶2。因此在解析图谱中只要通过比较共振峰的面积，就能决定各种氢核的相对数目。怎样知道共振峰的面积大小呢？常用积分曲线高度法。信号的强度与氢核数目有关，一个峰面积越大，则表示含氢数越多。一个分子式已知的化合物若测得峰的相对面积之比，根据所含氢核数就可标出各峰面积所代表的相应氢核数，这对结构鉴定极为有用。现在的 NMR 仪上均装有自动积分仪，可对峰面积进行自动积分，得到的数值阶梯式积分曲线高度表示，峰面积越大，积分线高度越高。度量高度既可用长度单位，也可用记录纸小方格为单位，目前仪器可自动记录，不需人工测量。

三、自旋偶合和偶合常数——信号的裂分

在高分辨核磁共振实验中，所得到的共振信号大多是裂分谱线，这种裂分是磁性之间自旋-自旋偶合干扰作用产生的结果，自旋偶合是同一分子的磁性核间通过连接这些核的价电子相互传递自旋状态信息过程。自旋偶合所引起的谱线增多称之为裂分。偶合与裂分的含义不可混淆。在干扰作用很弱时，谱线裂分后的宽度是偶合常数 J，干扰作用较强时，偶合数不能直接从裂分宽度测得。

自旋偶合是通过价电子完成的间接的偶极-偶极作用。它同外加磁场强度无关，也较少受分子外界条件如溶剂、温度等变化的影响。

对于化合物来说，由于其组成不同，化合物的共振信号并不是单峰。实际上分子氢核常因受邻近不同化学位移氢核的干扰，其共振信号可裂分成双重峰、三重峰、四重峰。

1,1-二溴乙烷的 ^1H NMR 谱图如图 4-4。

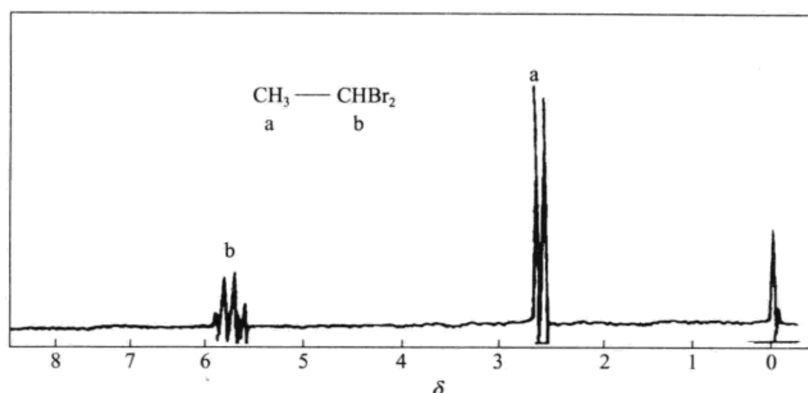


图 4-4 1,1-二溴乙烷的[1]H NMR 谱图

a 在 δ2.6—CH_3 的峰裂分为二重峰，这是由于与甲基相邻的 $-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 上的氢核在磁场中有 2 种自旋取向。一种取向与 H_0 反向，它所产生的自旋磁场使—CH_3上的质子实受的外磁场稍微减弱，因此在略高的外磁场下才能共振，结果—CH_3 上的部分质子（占$\frac{1}{2}$）信号向高场位移，另一自旋取向与外磁场同向，作用正好相反，使—CH_3 上的另一部分（占$\frac{1}{2}$）的信号向低场位移。这样因相邻质子相互干扰的结果，而使甲基质子的信号裂分为二重峰，两个小峰相对强度之比为 1∶1。

b 在 δ 5.85 $-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 的峰裂分为四重峰。这是因为次甲基相邻的—CH_3 上的氢核在外磁场中能形成 8 种自旋取向的组合，可归纳为四种局部磁场，使 $-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 上的质子信号裂分成四重峰。四个小峰的强度比 1∶3∶3∶1。上述两种氢核之间的磁性相互干扰，称为自旋-自旋偶合，简称自旋偶合，由自旋偶合引起的谱线增多的现象称为自旋-自旋裂分，简称自旋裂分。裂分峰中各小峰之间的距离称为偶合常数，用 J 表示，单位 Hz。对一定化合物而言，J 为一常数。对于简单有机化合物，NMR 信号的裂分遵循下列一般规律。

1. $n+1$ 规律

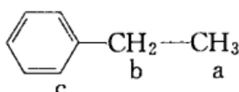
有机化合物中氢核的信号裂分峰决定于邻接碳上磁等同的质子数，如果此峰为 n，则裂分峰为 $n+1$。也可以说相邻的氢是 n，即显示 $n+1$ 个峰。磁等同是指化学位移相同且对组外任何一个氢核只有一种偶合常数的核。也可以说这组氢

核的化学环境是相同的。

例如在 CH_3CHBr_2 的 ^1H NMR 谱中，$—CH_3$ 与 $—\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 相邻，$—\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 上有 1 个 H 质子，$n=1$，故该甲基的信号裂分为 $1+1=2$ 即为二重峰，$—\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 和 $—CH_3$ 相邻，$—CH_3$ 上有 3 个 H 质子，$n=3$，$3+1=4$，故 $—\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 的信号裂分为四重峰。

用 $n+1$ 简单规律判断自旋裂分情况是适宜的。

例如，用 $n+1$ 规律判断乙苯在 NMR 谱中峰的裂分形式，并用 a、b、c 表示。



甲基相邻的次甲基连有 2 个 H，$2+1=3$，甲基 a 裂分成三重峰，次甲基相邻的甲基相连 3 个 H，$3+1=4$，b 裂分成四重峰，次甲基连的苯环上没有 H，所以苯环上 5 个 H 在同一化学环境，c 裂分是一个单峰。

2. 磁等同的核之间不产生裂分

峰的裂分只有当相互偶合的氢核化学位移不等时才能表现出来，在磁等同核之间虽有偶合，但不生产裂分。例如甲基上的三个质子属磁等同，当与甲基相连的原子上不连氢，甲基就只形成单峰。像 $CH_3—\overset{O}{\overset{\|}{C}}—$，$CH_3—O—$，$CH_3—\overset{|}{C}=C\langle$，$\rangle N—CH_3$，$C_6H_5—CH_3$，$CH_3—\overset{|}{\underset{|}{C}}—$。

例如：对叔丁基甲苯的 NMR 谱图如图 4-5。

图中的叔丁基、对甲基都是单峰。并且三组信号的积分线高度之比 8.8∶2.9∶3.8，三个高度总和为 15.5。对叔丁基甲苯的分子式 $C_{11}H_{16}$，共有 16 个 H，故每一高度单位相当于 16H/15.5=1.03 个 H，据此算出各组信号所含氢核数为 $a=1.03\times8.8=9.1$，$b=1.03\times2.9=3.0$，$c=1.03\times3.8=3.9$ 即 a 为 9H，b 为 3H，c 为 4 个 H。

3. 氢核交换与化学位移

若氢原子与氧、氮、硫相连，彼此之间可发生交换。



交换过程的进行与否及交换速度的快慢，对氢核吸收峰的化学位移及峰的图形影响很大。如 CH_3CH_2OH 中的 OH 氢质子（图 4-6），虽与 $—CH_2—$ 相连，但不裂分为三重峰，一般表现出单峰。$—CH_2—$ 也不因相邻 OH 而裂分为二重峰，

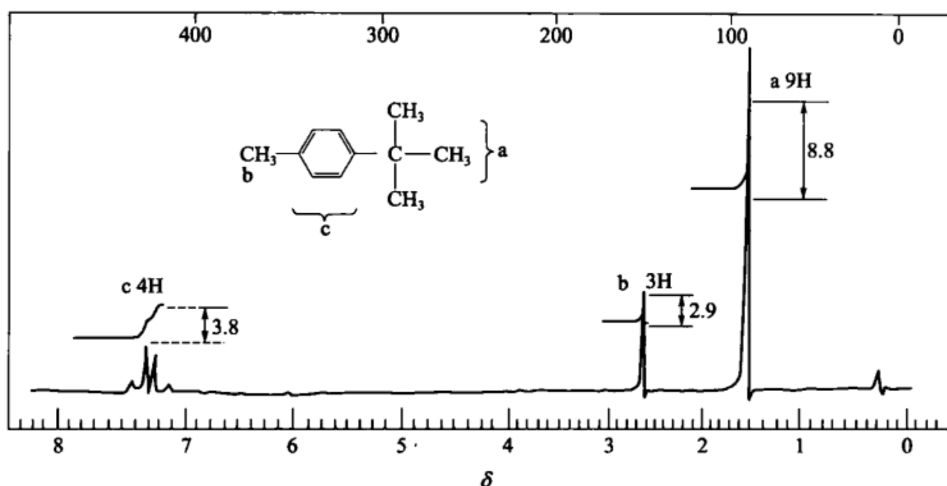


图 4-5 对叔丁基甲苯的[1] H NMR 谱图

而是与—CH_3 偶合而裂分为四重峰。这是由于 OH 质子与 CH_2 质子快速交换，使其偶合作用平均化。

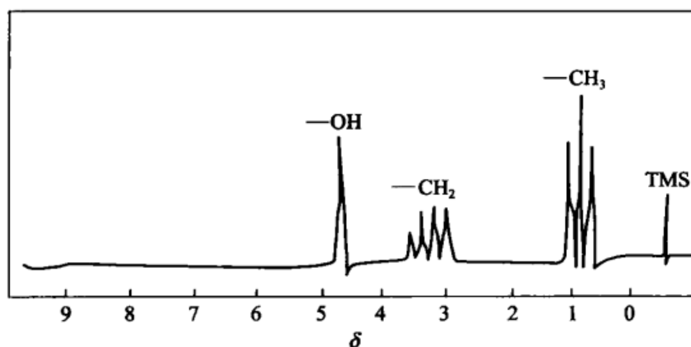


图 4-6 乙醇的核磁共振谱图（60MHz，溶剂 CCl_4）

第三节 影响化学位移的主要因素

化学位移的大小与屏蔽效应相关联，但影响化学位移的因素是多方面的，现主要归纳为以下几点。

一、诱导效应

由于氢原子核外只有 s 电子，故抗磁屏蔽效应起主导作用，电负性较大的元素能使周围电子密度降低，减少对氢核的屏蔽作用，从而使 δ 值增大。例如：

	$CH_3—F$	$CH_3—Br$	$CH_3—I$	$CH_3—CH_3$
δ	4.26	2.68	2.16	0.88
	$CH_3—Cl$	CH_2Cl_2	$CHCl_3$	
δ	3.05	5.33	7.24	
	$CH_3—Br$	$CH_3CH_2—Br$	$CH_3CH_2CH_2—Br$	
δ_{CH_3}	2.68	1.68	1.04	

以上溴代烷中—CH_3 上氢核的 δ 值随碳链的增长而递减。

	$R—CH_3$	$R—CH_2—R$	R_3CH
δ	0.9	1.3	1.5

常见有机官能团的电负性，均大于氢原子的电负性，故上列烷烃中甲基、亚甲基、次甲基的 δ 值依次递增。

二、π 电子的屏蔽作用——各向异性

例如：

	$CH_3—CH_3$	$CH_2═CH_2$	$CH≡CH$	C_6H_6（苯）
δ	0.88	5.23	2.88	7.27

以上化合物的化学位移不能简单地用电负性来解释，现分别如下说明。

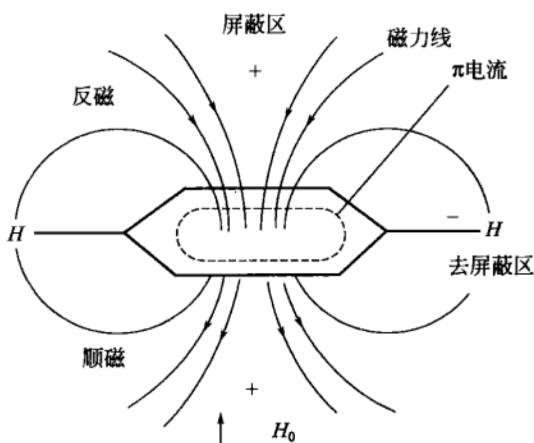


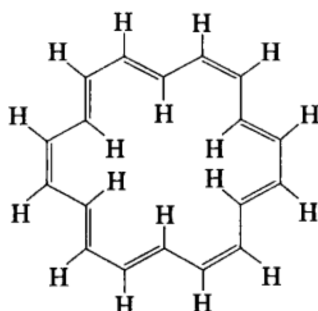
图 4-7　苯环的屏蔽效应

1. 芳环的 π 电子环流

芳环的 π 电子在外磁场 H_0 作用下形成环电流，同时产生一个感应磁场。其屏蔽效应如图 4-7。环的上、下方为屏蔽区，用“+”表示，其他方向为去屏蔽区，用“−”表示。两者交界处为零。那么为什么苯环的上、下方为“+”呢？这是因为苯环的电流产生感应磁场，当感应磁场的方向与外磁场（H_0）方向相反时，对外磁场起抗磁作用。因环

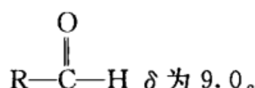
电流对环上氢核产生去屏蔽作用，故苯环上的氢核 δ（7.27）明显移向低场。

具有芳香性的［18］轮烯中十二个环外氢 δ 为 9.28，六个环内氢 δ 为 −2.99。可见芳环内有很强的屏蔽作用，使环内氢移向高场，甚至在 TMS 的右方（δ 为负值）。



2. 双键

碳碳双键和碳氧双键相似，π 电子分布于键轴的上下方（图 4-8），如同苯环的 π 电子一样。烯氢与醛基均处于去屏蔽区，在低场出峰，即 δ 值增大，如


δ 为 9.0。

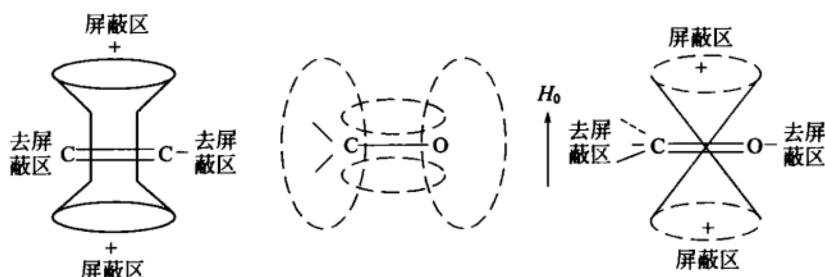


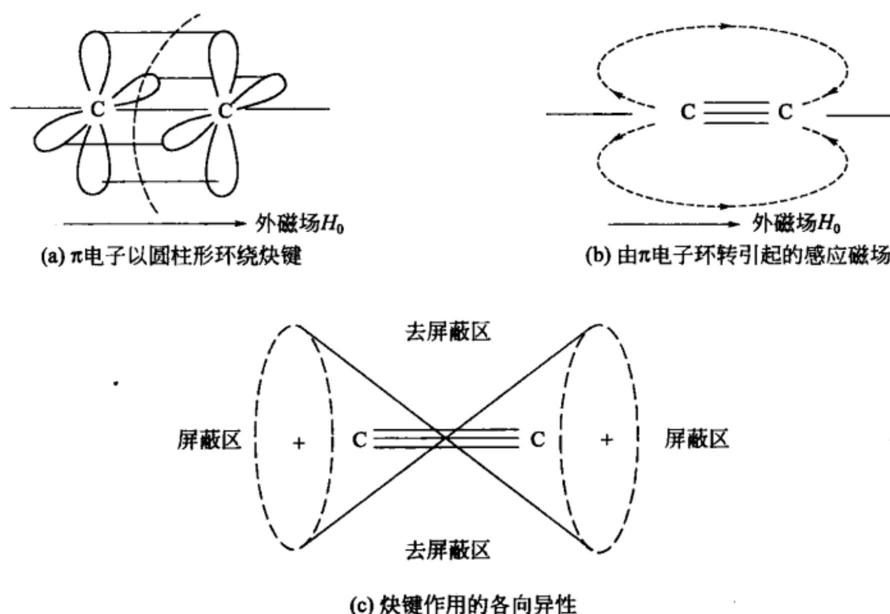
图 4-8 双键 π 电子的屏蔽作用

3. 炔键

C≡C 键 π 电子呈圆柱分布，在外磁场作用下绕键轴转动形成环流（图 4-9）所产生的感应磁场使处于碳碳键轴两端的炔氢受到强烈的屏蔽，因此乙炔（δ 2.88）相对于乙烯（δ 5.23）在高场出峰。

三、氢键

氢键的形成能显著改变羟基和其他基团上氢核的化学位移。由于分子间形成氢键的多少与样品浓度和溶剂的性质有很大关系，故羟基的化学位移可在一个很大的范围内变动，谱图中的羟基峰宽。一般来说，R—OH 的 δ 0.5～4.5，



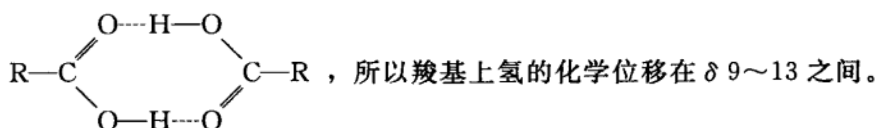
(a) π电子以圆柱形环绕炔键　　(b) 由π电子环转引起的感应磁场

(c) 炔键作用的各向异性

图 4-9　炔键 π 电子的屏蔽作用

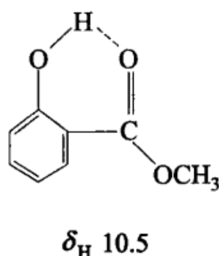
Ar—OH的 δ 4.5～10。

羟酸在溶液中可形成双分子氢键，如：

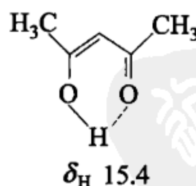


，所以羧基上氢的化学位移在 δ 9～13 之间。

分子内氢键对羟基氢的化学位移影响显著，如：



δ_H 10.5



δ_H 15.4

四、溶剂的影响

通常 NMR 大多在溶液中进行测定，溶剂最好不含 H，常用 CCl_4、$CDCl_3$ 等。一些极性强的化合物如糖类等不溶于 $CDCl_3$，则改用极性较强的 $CD_3—\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}—CD_3$（δ 2.5）等，若采用廉价的不含氢的溶剂，则需进行两次测定，

一次用 CH_3CN（δ 1.97）或 $CH_3-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{S}-CH_3$（二甲亚砜，δ 2.50）作溶剂，可观察到被测物在 δ>3 范围内的峰，另一次以 $C_6H_5NO_2$（δ 7.2）或吡啶作溶剂，可以不受干扰地观察到 δ<6 范围内的谱峰。两次测试可合为一个完整的 ^1H NMR谱图。

在生物化学中常见的水化合物、氨基酸、核酸等，由于只溶于水而不溶于有机溶剂，则可用 D_2O 作溶剂，此时因 TMS 不能溶解，要改用 O⬡O（1,4-二氧六环）、CH_3CN 等作内标。

关于溶剂对化学位移的影响，现仅以—OH、—COOH、$-\overset{|}{N}-H$ 中活泼氢的差别为例，介绍两种简单方法。

1. 加重水

将被测样品溶于 CCl_4 或 $CDCl_3$，配制成 5%～10%的溶液，测定 ^1H NMR 谱，然后再加入少量 D_2O 摇匀，使样品中活泼氢被交换。如：



$$R-OH+D_2O \rightleftharpoons R-O-D+HDO$$

再测定 ^1H NMR 谱，加入 D_2O 后，原—OH 峰消失，因此可以推断原来分子中有—OH存在。

2. 加盐酸

不加 D_2O 而用少量稀盐酸取代，也可判定活泼氢的存在与否。因为 HCl 溶于有机溶剂后与样品（如醇）生成氢键，使化学位移向低场移动（δ 值增大），即可证明。

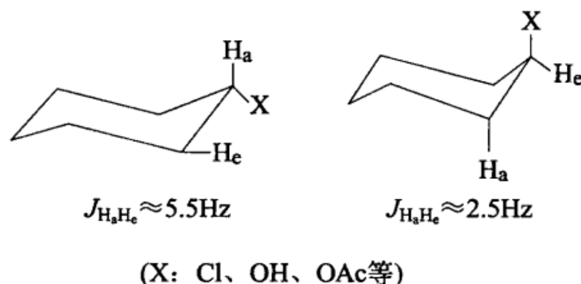
第四节　偶合常数与结构的关系

自旋偶合是普遍存在的，同碳原子上的氢原子之间的偶合称为同碳偶合(gemina coupling)，简称偕偶，相邻碳原子上氢原子之间的偶合称为邻碳偶合，简称邻偶。由于偶合作用是通过键或电子对而传递的，随着相隔数目的增加，偶合作用迅速减弱。因此，在 ^1H NMR 谱中占有突出地位。在图谱解析中，通过求偶合常数 J 值，对推断化合物的结构，尤其是对立体化学的研究十分有用。下面仅举几例简要说明。

一、饱和碳原子上的邻偶

在环状化合物中，吸电子取代基 X（卤基或—OH 等）的方向会影响 $J_{邻}$ 的大小，常可借此确定脂环衍生物中取代基的构型。如环己烷横键上取代比竖键上

取代的 $J_{H_aH_e}$ 值大。

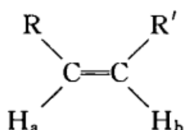


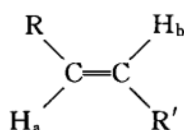
$J_{H_aH_e} \approx 5.5Hz$　　$J_{H_aH_e} \approx 2.5Hz$

(X：Cl、OH、OAc等)

二、烯碳上的邻偶

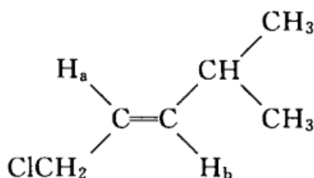
双键上邻位二氢的偶合常数取决于几何构型，J_{ab} 的大致范围是：

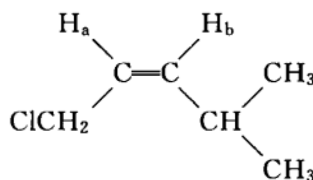




顺式 $J_{ab} \approx 7 \sim 11Hz$　　反式 $J_{ab} \approx 12 \sim 18Hz$

例如，某化合物有下列两种异构体，经实测，在 60MHz、^{1}HNMR 谱上可看出 H_a 和 H_b 在 δ 为 5.0～6.0 之间有偶合，但图形复杂，谱峰不清，在 220MHz 谱上求得 $J_{ab} \approx 15.3Hz$，谱图清晰，故断定该化合物为反式构型。

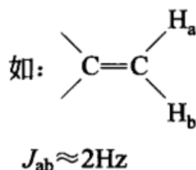




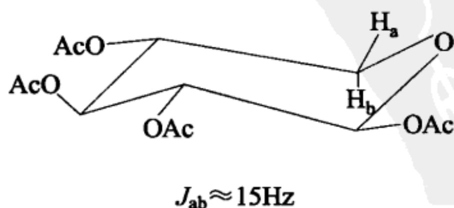
三、同碳偶合

同碳上的氢原子 δ 值往往相等，故一般不产生裂分。例如—CH_3 可以自由旋转，故甲基上的三个 H δ 值相同，看不到峰的裂分（除因不邻碳偶合而产生裂分）。—CH_2—如果在双键未端或在环上，就不能自由旋转，可能有不同的化学位移，相互偶合而产生裂分。

如：



$J_{ab} \approx 2Hz$



$J_{ab} \approx 15Hz$

四、苯环化合物

苯环和其他不饱和体系由于 π 电子的存在，使偶合作用能传递到较远的距离。苯环上的氢有时是一单峰，有时却是很复杂的多重峰。单取代苯当取代基为饱和碳原子时，环上的五个 H 往往没有区别而在谱图上出现一个单峰，当取代基为 O、N、S 等杂原子或不饱和碳时，苯环上五个 H 的 δ 不同，因此显示复杂的裂分情况，但在结构鉴定中一般对此不做详细分析，双取代苯（以二硝苯为例）因取代位置的不同，有下列几种情况，见图 4-10。

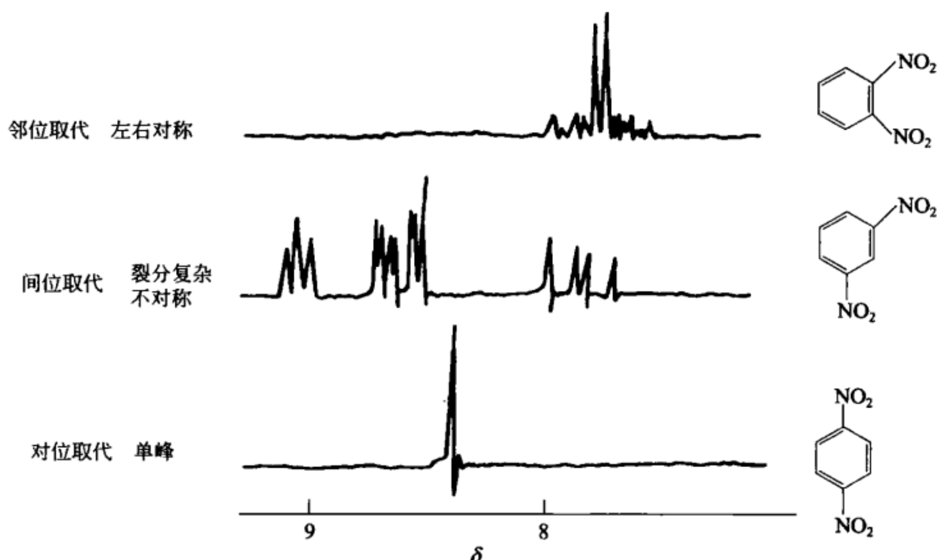
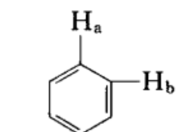
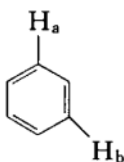


图 4-10 二硝基苯的^{1}HNMR 谱

当苯环上 H_a 和 H_b 所处相对位置不同时，J 值也不同。就此可识别取代位置不同的异构体。



$J_{ab}=8\sim10$Hz
通常为 8Hz



$J_{ab}=0\sim3$Hz
通常为 2Hz



$J_{ab}=0\sim1$Hz
通常为 0Hz

例如：下列是化合物 A 和 B 的结构式及其^{1}H NMR 谱（Ⅰ）和（Ⅱ）（图 4-11、图 4-12)，试判别哪一个是 A? 哪一个是 B?

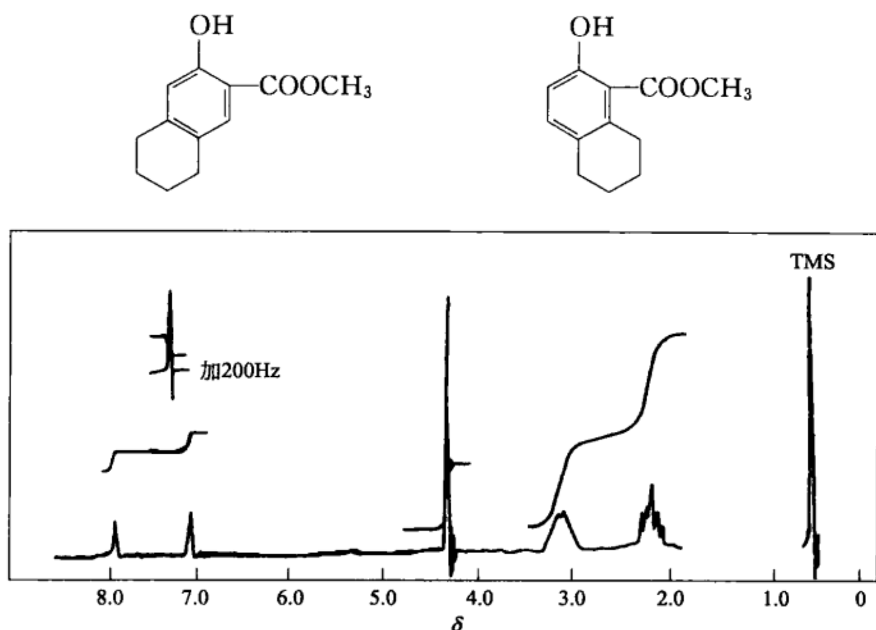


图 4-11　¹HNMR 谱（Ⅰ）

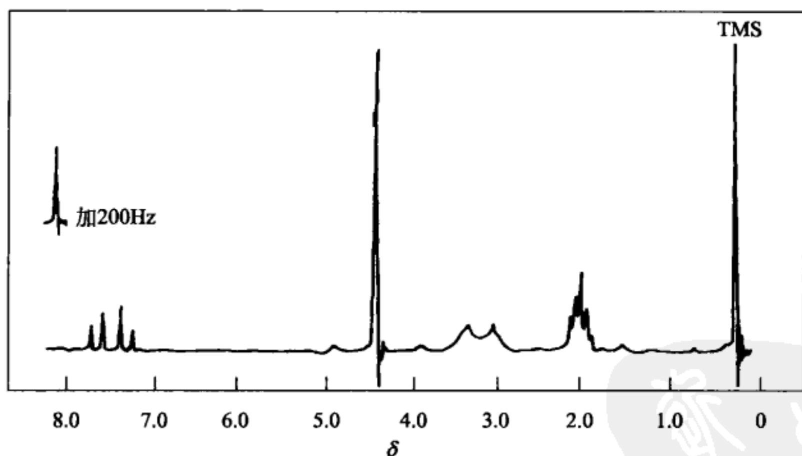


图 4-12　¹HNMR 谱（Ⅱ）

解：化合物 A 和 B 中两个主要取代基均为邻位取代，六元脂环与苯环相合，苯环上只有两个 H 原子处于不同位置上。谱图Ⅰ中 δ 7.0 附近形成两个单峰，应是对位二氢，故谱图（Ⅰ）为化合物 A，谱图（Ⅱ）在 δ 7.0 处形成四重峰（不是按简单的 $n+1$ 规律），$J=9$Hz，可见是邻位二氢，故谱图（Ⅱ）为化合物 B。下面是常见 δ 值的表（表 4-2、表 4-3）。

表 4-2 常见各类氢核的化学位移值（δ）

Y	CH_3—Y	R—CH_2—Y	R_2CH—Y	Y	CH_3—Y	R—CH_2—Y	R_2CH—Y
R	0.9	1.3	1.5	CR—CR_2	1.7	1.8	2.6
Cl	3.1	3.5	4.1	C_6H_5	2.3	2.7	2.9
Br	2.7	3.4	4.1	CHO	2.2	2.3	2.4
I	2.2	3.2	4.2	COR	2.1	2.3	2.5
OH	3.4	3.5	3.9	COAr	2.6	2.7	3.5
OR	3.3	3.4	3.6	COOH	2.0	2.3	2.5
				COOR	2.0	2.2	
O—COR	3.8	4.0	5.0	$CONH_2$	2.0		
O—COAr	4.3	4.3	5.2	C≡CR	1.8	2.1	
NR_2	2.5	2.6	2.9	C≡N	2.0	2.3	

R—C≡CH	2～3	R_2C═CH_2	4.5～6.0	R_2C═CHR	5.2～5.7
Ar—H	6～9	R—CH═O	9～10	R—CO_2H	10～13
R—OH	1～6	ArOH	4～8	RNH_2，R_2NH	1～5

表 4-3 各种基团上氢原子化学位移值

基　团	质子类型	化学位移 δ	基　团	质子类型	化学位移 δ
环丙烷	CH_2—CH_2—CH_2（成环）	0.2～0.9	醚类	R—O—C(—)—H	3.3～4
伯烷基	R—CH_3	0.9			
仲烷基	R—CH_2—R	1.3	醇类	HO—C(—)—H	3.4～4
叔烷基	R_3CH	1.5			
乙烯	>C═C<	4.6～5.9	氟代烷	F—C(—)—H	4～4.5
乙炔	—C≡C—H	2～3			
芳烃	Ar—H	6～8.5	氯代烷	Cl—C(—)—H	3～4
	Ar—CH_3	2～3			
烯丙基	>C═C(—)—CH_3	1.7～1.8	溴代烷	Br—C(—)—H	2.7～4
醛类	—C(═O)—H	9～10	碘代烷	I—C(—)—H	2～4
			羟基	R—OH①	1～6
			酚基	Ar—OH①	4～12

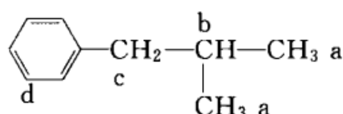
续表

基　团	质子类型	化学位移 δ	基　团	质子类型	化学位移 δ
酮类	$-\overset{\overset{O}{\|\|}}{C}-\overset{\|}{C}-H$	2～2.7	羧基	R—COOH①	10～12
			氨基	$R-NH_2$①	1～5
酯类	$-\overset{\overset{O}{\|\|}}{C}-O-\overset{\|}{\underset{\|}{C}}H$	2～2.2			

① 化学位移随所用溶剂、温度、浓度不同而有改变。

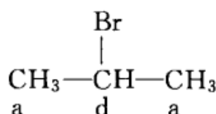
从以下的例题中看^{1}H NMR 的一些具体应用。

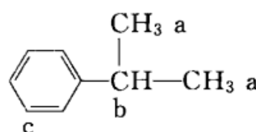
例 1 $C_6H_5-CH_2-\underset{\underset{CH_3}{\|}}{CH}-CH_3$ 在^{1}H NMR 谱可能出现几个信号？用 a、b、c、…表示。



解：因两个甲基在相同环境，a 给出同一信号，b、c、d 质子的化学环境不同，所以给出三个信号。上述化合物给出 4 个信号。

例 2 2-溴丙烷和异丙基苯在^{1}H NMR 谱中可能出现几组峰，每个峰的可能裂分情况？





解：2-溴丙烷，两个甲基在相同的化学环境而相邻的碳上有一个 H，用 $n+1$ 规律，$n=1$，$1+1=2$，两个甲基会出现二重峰，$-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 上连着两个甲基、6 个 H，用 $n+1$ 规律，则裂分成七重峰。在 2-溴丙烷的^{1}H NMR 谱中 δ 1.5 有二重峰，δ 4.11 有七重峰。共有 2 种峰。

异丙基苯两个甲基相邻的碳上有 1 个 H，所以两个甲基裂分成二重峰，$-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 上连着两个甲基 6 个 H 裂分成七重峰，苯环上的碳与 $-\overset{|}{\underset{|}{C}}H$ 连接没有氢，所以是单峰。异丙基苯在^{1}H NMR 谱中共有三组峰。δ 1.2 是甲基二重峰，

δ 2.9 七重峰，δ 7.2 单峰（芳烃）。

例 3 已知某化合物分子式 C_7H_8O，试根据下列^1H NMR 谱图 4-13 推结构。

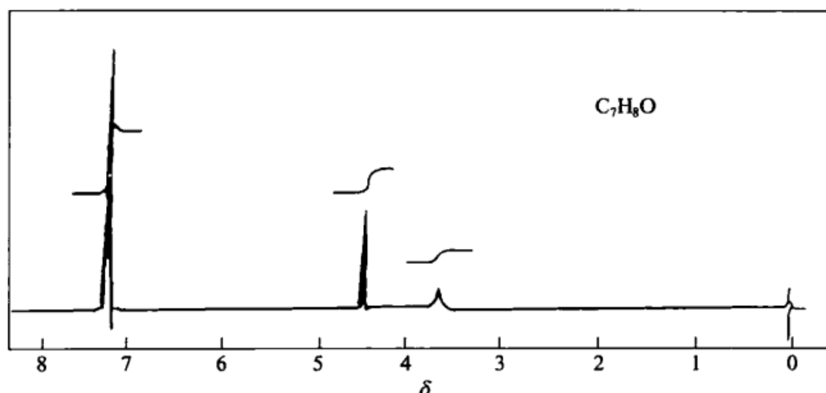


图 4-13 化合物 C_7H_8O 的^1HNMR 谱

δ 7.2 有单峰表示有苯环，分子中有氧，可能是醛、醚、羰基。δ 9～10 没有峰，不是醛基，羟基峰低而宽（δ 0.5～5.5 之间），δ 3.7 处有低宽峰，可能是 OH，δ 4.5 有单峰，因与苯环连接又连接氧，无裂分 Ar—CH_2—O—，本化合物为 C_6H_5—CH_2—OH ，在样品中加入 D_2O，若—OH 峰消失，即可确证羟基的存在。

第五节 NMR 谱图的解析与应用

1. 确定样品分子式

确定样品分子式，从中获得所含氢质子数，并尽可能地利用其他方面所提供的有关结构信息。

2. 根据积分线高度求氢核数

根据积分线高度和总氢质子数，求出各组信号所代表的氢核数。

3. 从 δ 值确定氢

从 δ 值识别信号可能属于哪类型的氢。

4. 从峰的裂分度和 J 值找出信号

从峰的裂分度和 J 值找出相互偶合的信号，从而确定邻接碳原子上氢质子数和相互关联的结构片段。

5. 若测已知样品可与标准图谱对照

若待测样品为已知物时，可用标准图谱进行核对，加以确认。

第六节　NMR在药物分析和分子生物学及医学中的应用

普通NMR谱是一个平面图，是吸收峰强度对一个频率变量作图，是一个频率变量的函数$S(\omega)$，被称作一维NMR，二维核磁共振波谱（2D NMR）是2个频率变量的函数$S(\omega_1,\omega_2)$，吸收峰对2个频率变量作图，有2种表达方式。一种是堆积图，看起来像三维立体图；另一种是最常见的等高线图。常有一类图，是吸收峰强度对2个变量作图，其中一个变量是频率，另一个变量是时间、温度或浓度等，看起来像二维谱，但仍是一维NMR谱。三维NMR（3D NMR）是3个频率变量的函数$S(\omega_1,\omega_2,\omega_3)$。多维核磁共振谱的特点如下。

① 多维谱可以把一维谱中的重叠峰在二维或三维方向展开，便于NMR谱的解析。

② 多维谱并不是一维谱的简单叠加，它比低维谱有丰富的信息。

③ 实验方法灵活多样。自从2D NMR的理论基础完善以后，从而产生各种有用的多维NMR技术。

由于多维谱具有上述特点，使这一技术成为单独用来研究蛋白质在溶液中空间结构的唯一方法。这一方法的完善和发展，会对生物大分子结构与功能研究做出更多贡献。

一、在药物分析中的应用

在药物分析中核磁共振谱除了用于化合物的结构测定外，也成为药物定量分析的一种重要手段。定量测定方法有以下几种。

1. 内标绝对测定法

内标法是核磁共振定量分析中使用最为广泛的方法，测定准确性高。由于不需先求被测化合物与内标化合物的相对灵敏度，故使用方便。其方法是将精密称量的样品以合适的溶剂配成浓度为$0.2\mathrm{mol}\cdot\mathrm{L}^{-1}$左右的溶液，加入相应浓度并精密称量的内标化合物，充分混合后，置于样品管中。

2. 外标绝对测定法

有时被测核磁共振谱比较复杂，或者样品是复方制剂而使谱线比较拥挤，难以插入合适的内标信号，可改用外标绝对测定法进行定量分析，如果备有某被测物的纯品，可采用外标法以简化实验。

3. 相对含量测定法

当被测样品是由若干已知化合物组成，只需要求出各组分的相对含量，如果

没有合适的内标化合物时，可采用相对测量法。

4. 峰高定量法

吸收信号的峰高与该基团质子横向弛豫时间 T_2 有关，不能直接用于定量。当被积信号过于接近而无法准确测定各自面积时，可考虑用峰高法进行定量分析。首先通过实验，求出峰高与含量之间的关系常数，以校正弛豫时间等因素造成的非线性误差。由于测量峰高之积分大且简便比较准确。求得关系常数后，适用于大量样品的常规分析。此法比较广泛。还可以对药物主成分分析、复方制剂组分分析、分子量测定等。

二、测定生物大分子的空间结构

自从 Tardetzky 和 Saunders 开始将 NMR 引进分子生物学研究以来，使该领域蓬勃发展，涉及物质代谢，动力学、热力学、生物大分子的结构功能，生物分子相互作用等各个方面。由于 NMR 的非破坏性，用 NMR 研究完整组织受到广泛重视，可根据 NMR 谱图确定某成分的存在和浓度，这是其他方法难以胜任的。

研究生物大分子，特别是蛋白质的空间结构，对探索生命现象的本质有着重要意义。到目前为止，分析蛋白质的三维结构的最有力方法，仍然是 X 射线晶体衍射方法，它能够精确地确定生物大分子中各原子的坐标、键长、键角等。但这种方法有其固有的局限性，它只能测定单晶的结构，反映的主要是静态的结构信息。已经知道，结晶过程会改变蛋白质的空间结构，并阻止溶液中的运动过程，而生命现象的复杂多变功能，是在溶液状态完成的，并与生物大分子在溶液状态的多变结构达到高度完善的统一。因此蛋白质在溶液中的空间结构是头等重要的。自从 Wüthrich 及其同事们第一次成功地用 2D NMR 技术，测定了溶液中蛋白质结构至今，应用 NMR 和计算机模拟相结合，可以测定蛋白质分子和核酸片段在溶液中的三维结构，它与 X 射线晶体衍射法一起，成为测定蛋白质等生物大分子结构的 2 种极其重要的互补手段。必须说明的是，研究生物大分子的结构需先进的 NMR 谱仪，其质子共振频率多在 500MHz 以上，目前商品谱仪已高达 800MHz，美国 Florida 的国家强磁体联合实验室正在研制 900MHz 的 NMR 谱仪，并在设计 1000MHz 的有外接磁电源的超强磁体仪。这些谱仪功能齐全，应当能完成二维和三维甚至于四维谱的实验，这些谱仪还备有快速处理的空间三维显示图形工作站。

研究蛋白质三维结构，到目前为止，NMR 法在精度上还不如 X 射线衍射法，但它的若干优点都是 X 射线法难以比拟的。其优点如下。

① NMR 法可以在水溶液或有机相中研究生物大分子结构，绝大多数生物大

分子至今不能得到单晶，因此不能用X射线衍射法研究其结构，但NMR法可对这类分子进行空间结构研究。若得到单晶大分子，则可以用NMR技术与X射线衍射法相结合，获得晶体和非晶态构象的有意义的比较信息，以探索生物大分子结构与功能的关系。

② 溶液条件的改变对生物大分子空间构象的影响　溶液的条件可在很大范围内变化，如pH、温度、离子强度、缓冲液种类、加入各种配基和其他效应物（如底物、产物、激活剂、抑制剂、变性剂）等，这样可以用来研究溶液条件对生物大分子空间结构的影响，观察生物大分子变性过程与空间结构的关系，研究配基、效应物与生物大分子间的相互作用，也可以研究生物大分子间的相互作用与空间结构的关系（如蛋白质的解离和聚合作用，蛋白质与核酸间的相互作用等）。

③ 生物大分子内部动力学的特点。由于NMR研究蛋白质三维结构具有如上述特点，因而用NMR技术对生物大分子空间结构的研究，越来越受到各国学者的重视。

三、核磁共振在医学中的应用

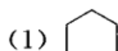
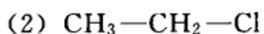
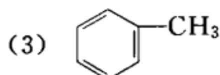
目前临床上诊断用的一种先进手段磁共振成像（MRI）也是基于^{1}HNMR原理而发展来的，利用MRI可观察水分子中的两个质子，因我们机体的每个细胞都会有相当量的水，故可用以显示组织和器官。由于病态细胞中的水质子在MRI成像中不同于正常健康细胞中的质子，因此利用计算机技术可将检查部位横切片的二维图像记录下来并进而集合成一个三维图像，供临床诊断。

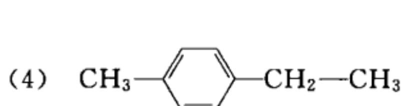
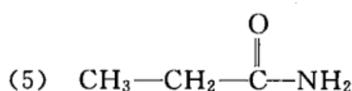
用现代化NMR实验技术，例如：多维谱及固体高分辨谱方法测量溶液中的生物膜的生物分子结构参数，从而建立这些分子的空间构象是当前NMR技术发展的热点。近年来，溶液中生物大分子的构象测定大致上可以达到这样的水平，对于一些蛋白质分子，其骨架结构原子分布偏差可达0.04nm以下，其他原子分布偏差在0.08nm以下。

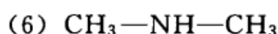
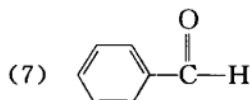
核磁共振技术是生物学、医学和药物学研究中非常重要的手段之一。

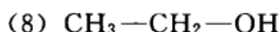
习　题

1. 试预测下列化合物中在NMR谱中，会出现多少种信号，用a、b、c、…表示。

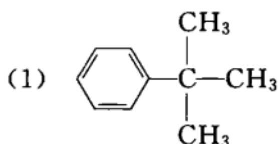
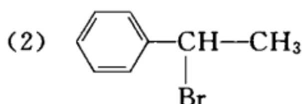
(1) 　(2) 　(3) 

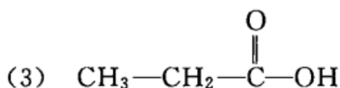
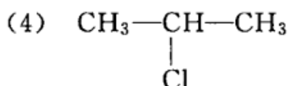
（4） 
（5） 

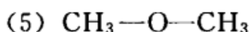
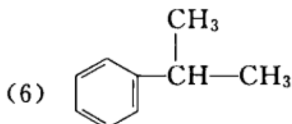
（6） 
（7） 

（8） 

2. 用$n+1$规律判断下列化合物，在NMR谱中峰的裂分情况，用a、b、c、…表示。

（1） 
（2） 

（3） 
（4） 

（5） 
（6） 

3. 根据下列^1H NMR谱（图4-14、图4-15）和给出的分子式推测结构。

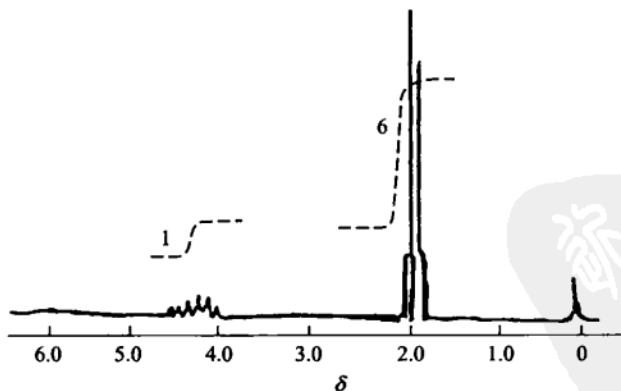


图4-14 C_3H_7I的^1H NMR谱

4. 某一液体有机物，分子式为$C_6H_{10}O_2$，IR光谱上于$1715cm^{-1}$处有强吸收，NMR谱（CCl_4中测得）如图4-16所示，试解析并推断其结构。

5. 某化合物分子为$C_4H_8O_2$，IR在$1730cm^{-1}$处有强吸收，^1H NMR有三

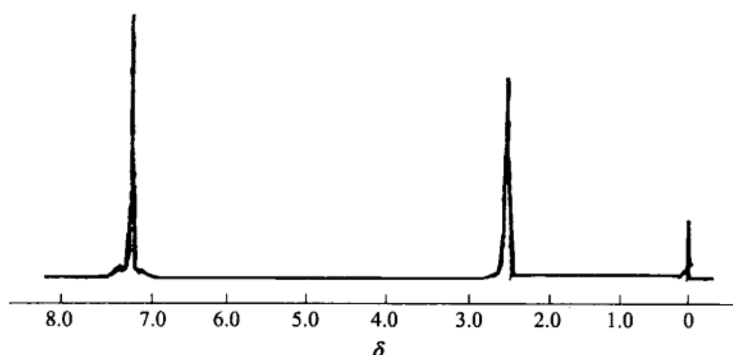


图 4-15　C_8H_{10} 的 ^{1}H NMR 谱

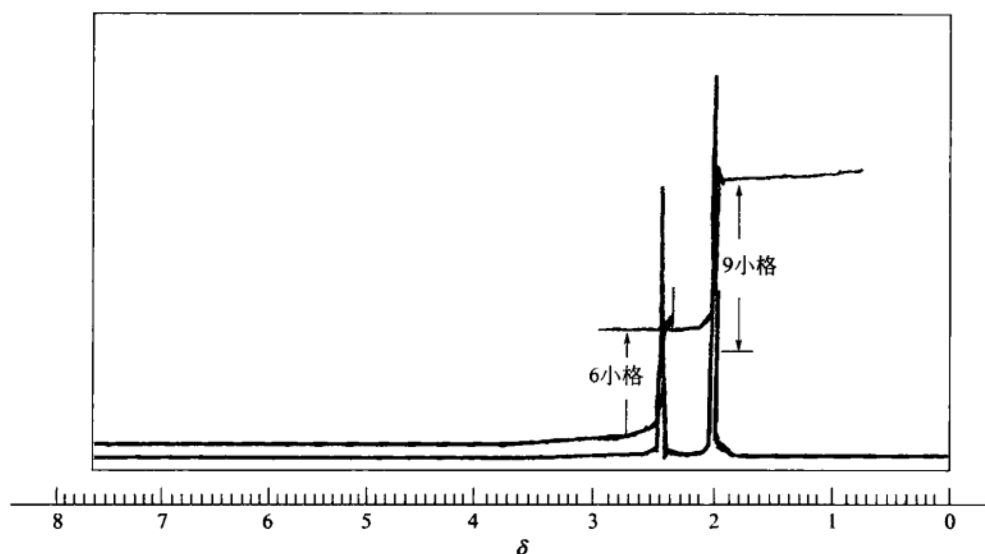
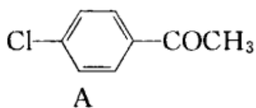


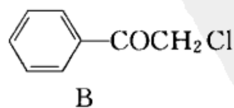
图 4-16　$C_6H_{10}O_2$ 的 ^{1}H NMR 谱

个信号，δ3.6 单峰（3H），δ2.3 四重峰（2H），δ1.15 三重峰（3H），该化合物的结构是什么?

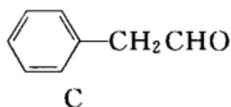
6. 某化合物从质谱图得知相对分子质量为 154，IR 在 1690cm^{-1} 处有强吸收，在 ^{1}H NMR 谱图上观察到有两组吸收峰，峰面积比为 5∶2，试问它是下列化合物中哪一个?



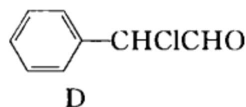
A



B



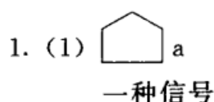
C



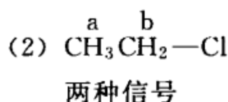
D

7. 某化合物分子式为 $C_9H_{10}O$，不发生碘仿反应和银镜反应，其红外光谱（IR）在 $1690cm^{-1}$ 处有强吸收峰，^1H 核磁共振谱化学位移 δ 为 1.2（3H），3.0（2H），7.7（5H）。试推断其结构。

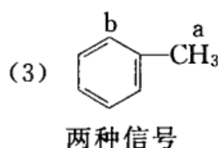
参考答案

1. (1) 

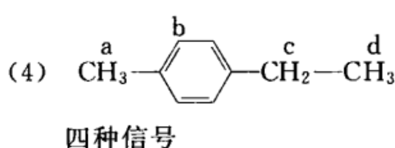
一种信号

(2) 

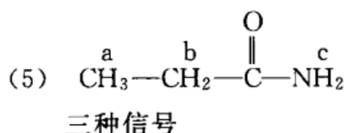
两种信号

(3) 

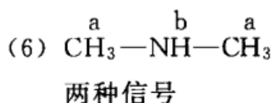
两种信号

(4) 

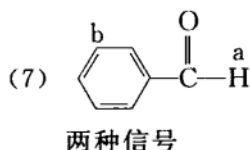
四种信号

(5) 

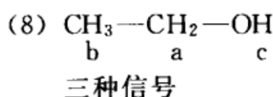
三种信号

(6) 

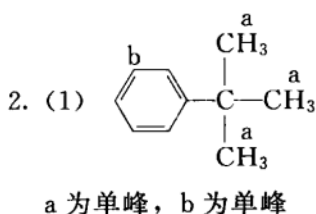
两种信号

(7) 

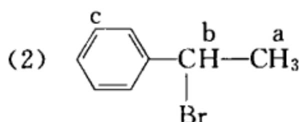
两种信号

(8) 

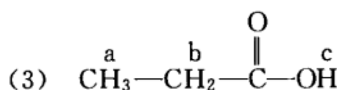
三种信号

2. (1) 

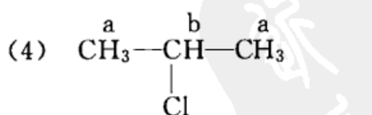
a 为单峰，b 为单峰

(2) 

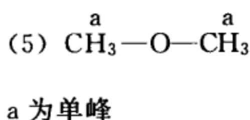
a 为二重峰，b 为四重峰，c 为单峰

(3) 

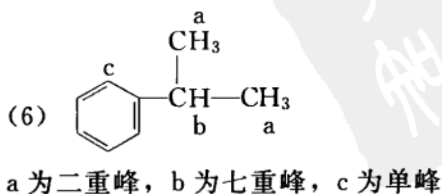
a 为三重峰，b 为四重峰，c 为单峰

(4) 

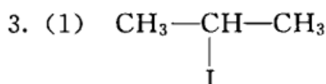
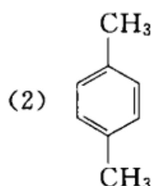
a 为二重峰，b 为七重峰

(5) 

a 为单峰

(6) 

a 为二重峰，b 为七重峰，c 为单峰

3. (1) 　　(2) 

4. 解：

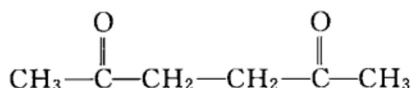
	积分曲线高度	氢原子数
δ 2.1 单峰	9 小格	6
	为 3∶2	
δ 2.6 单峰	6 小格	4

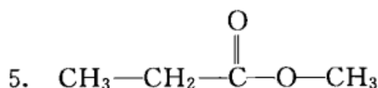
IR 有羰基吸收

δ 2.1 峰(6H) 为两个 $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_3$ 基

δ 2.6 峰(4H) 为 $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$

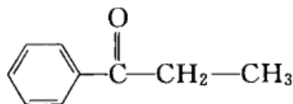
该化合物为：



5. 

6. 解：IR 1690cm^{-1} 为 $Ar-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-R$ 羰基的吸收，可能是 A 和 B，有 2 组^{1}HNMR 峰，A 峰面积 4∶3，B 峰面积 5∶2，即为 B。

7. 解：IR 1690cm^{-1}为羰基吸收峰，不发生银镜反应和碘仿反应，说明不是醛，也不是甲基酮。结合核磁共振谱的化学位移，其结构为



第五章　扫描隧道显微技术

第一节　扫描隧道显微（STM）技术简介

1982 年，国际商业机器公司苏黎世实验室的葛宾尼（Gerd Binnig）博士和海·罗雷尔（Heinrich Rohrer）博士及其同事们共同研制成功了世界上第一台新型的表面分析仪器——扫描隧道显微镜（scanning tunneling microscope，简称 STM）。它的出现使人类第一次能够实时地观察单个原子在物质表面的排列状态，以及与表面电子行为有关的物理化学性质，在表面科学、材料科学、生命科学等领域的研究有着重大的意义和广阔的应用前景，被国际科学界认为 20 世纪 80 年代世界十大科技成就之一。为表彰 STM 的发明者们对科学研究的杰出贡献，1986 年葛宾尼和罗雷尔被授予诺贝尔物理奖。

一、STM 独特的优点

① 具有原子级高分辨率。

② 可实时地得到实空间表面的三维图像，可用于具有周期性或不具备周期性的表面结构研究。

③ 可以观察单个原子层的局部表面结构，而不是体相或整个表面的平均性质。

④ 可在真空、大气、常温等不同环境下工作，甚至可将样品浸在水和其他溶液中，不需要特别的制样技术，并且探测过程对样品无损伤。

⑤ 配合扫描隧道谱（scanning tunneling spectroscopy，简称 STS）可以得到有关表面电子结构信息。

扫描隧道显微镜的基本原理是利用量子理论中隧道效应。将原子线度的极细探针和被研究物质的表面作为 2 个电极，当样品与针尖的距离非常接近时（通常小于 1nm），在外加电场的作用下，电子会穿过 2 个电极之间的势垒流向另一电极，这种现象即是隧道效应。隧道电流 I 是电子波函数重叠的量度，与针尖和样品之间距离 S 和平均功函数 Φ 有关：

$$I \propto V_b \exp\left(-A\Phi \frac{1}{2} S\right)$$

V_b 是加在针尖和样品之间的偏置电压；平均功函数 $\Phi \approx \frac{1}{2}(\Phi_1 + \Phi_2)$；$\Phi_1$ 和 Φ_2 分别为针尖和样品的功函数；A 为常数，在真空条件下约等于 1。扫描探针一般采用尖端曲率半径小于 1nm 的细金属丝，如钨丝、铂丝等，被观测样品应具有一定导电性才可以产生隧道电流。

由上式可知，隧道电流强度对针尖与样品表面之间距离非常敏感，如果距离 S 减少 0.1nm，隧道电流 I 将增加一个数量级。因此，利用电子反馈线路控制隧道电流的恒定，并用压电陶瓷材料控制针尖在样品表面扫描，则探针在垂直于样品方向上高低的变化就反映出了样品表面起伏，将针尖在样品表面扫描时运动的轨迹直接在荧光屏或记录纸上显示出来，就得到了样品表面态密度的分布或原子排列的图像。

二、STM 在结构分子生物学研究中的应用

① STM 能够在较高的分辨水平上观察样品的实三维表面结构，在 STM 出现以前，没有一种显微技术能在横向和纵向都达到原子级分辨率。尽管扫描透射电镜和场离子显微镜的横向分辨率也比较高，但扫描电镜要求样品表面镀上导电层，透射电镜仅适用于研究非常样品的体相和界面结构。场离子显微镜仅能探测吸附在直径小于 100nm 的针尖上的样品原子的二维几何结构，因此它们都有一定的局限性。另外，这 3 种显微镜都必须在高真空条件下工作。STM 能够直接获得样品表面的结构信息，是其他手段无法比拟的。

② STM 可适用于不同的探测环境，STM 不像通常的电子显微镜那样，必须局限在高真空中才能工作，也不像 X 射线衍射技术那样，样品必须是晶体。它不仅能在高真空下工作，而且能够在低温下、常温下，甚至在溶液条件下都获得分辨率很高的图像，它不仅能够观察晶体表面结构，而且能观察非晶体表面结构。由于远离生命条件将使生物样品丧失活性状态，无法反映其活性状态下的结构，因此在生命的天然条件下或准天然条件下（常温、常压、大气下、潮湿条件下或水溶液条件下），对生物样品的结构进行直接观察，是生命科学家梦寐以求的事情。STM 正是提供了这种可能，因而引起广泛兴趣。

③ STM 可改变观测范围，为研究各种不同层次的生命结构提供了可能。目前 STM 的扫描范围（或视野）可从数纳米到 150nm。这种不同的视野，使得 STM 能分别在接近原子水平、分子水平、超分子水平、亚细胞水平及细胞水平的不同层次上全面地研究生物样品的结构。

④ STM 相对于电镜和 X 射线衍射的样品制作来说操作简便，所需样品量极

小，而且成本低廉。这些独特的优点，为STM在生命科学领域尤其是生物大分子结构研究中的应用展开了广阔的前景。但是这项新的显微技术应用于生命科学的研究时，也会遇到以下问题。

a. 基底选择。

b. 样品的导电性。

c. 样品的固定。

d. 样品的柔软性。

e. 图像的识别、认定与解释。

三、STM应用于结构分子生物学研究时采用的技术

制备用于STM研究的生物大分子样品，尚未形成一套完整的方法和理论，为能确保获得稳定而真实的STM图像，目前所采用的主要方法简单介绍如下。

① 样品在基底表面分散。最简单的办法是将样品的稀溶液滴加到基底表面，让它干燥后自然吸附。

② 样品固定生物样品分散在基底表面之后，可以通过蒸镀法使样品表面形成一层导电膜，如金属膜或碳膜。

③ 水溶液中STM成像。Lindsay等人在水溶液条件下，获得DNA的STM图像。

④ Hopping技术。当针尖沿X方向进行扫描时，周期性地使针尖在Z方向上撤离样品表面然后再接近，并保持每次撤离的距离相等。

⑤ 光学显微镜与STM联用。如果STM探头的针尖和样品部位充分敞开，就能使高倍光学显微镜充分接近样品，从而观察、控制扫描针尖的位置。

第二节　核酸的STM研究

核酸包括DNA和RNA两大类。其中DNA是生命活动的主要遗传物质(只有少数低级生物如一些病毒，以RNA为遗传物质)，是生命活动的蓝本。在整个生命科学领域里，对DNA的结构与功能的研究处于核心位置。目前，人们对核酸结构的研究，已经积累了大量有意义的结果。但这些成果主要来源于X射线衍射、核磁共振、旋光色散，圆二色谱的分析及对核酸的一级结构顺序的分析。至于核酸在天然活性状态下的三维结构变化，及其执行生命功能时所发生的结构变化，是目前人们最感兴趣的问题，也是解释许多生命现象本质的关键所在。STM的出现，为人们在天然或准天然条件下直接观察DNA及RNA提供了可能。因而用STM研究核酸，尤其是DNA的结构，成为一个活跃的研究领域。

一、水溶液下的 DNA

STM 的出现，提供了在水溶液中直接观察 DNA 结构及其电化学行为的可能。利用水下的 STM 技术，已经获得了一系列有意义的结果。

早期，以超声波处理的小牛胸腺 DNA 作为研究对象，分别获得了聚集态和单个的 DNA 分子的 STM 图像。在聚集态的 DNA 图像中，可以看到纤维状的 DNA 分子呈现某种类似液晶态的规律排列，相邻分子之间相距约 2nm 宽的下凹图像。

近来，在原有工作的基础上，通过改变参比电极（氯化银电极）与基底工作电极（在新鲜裂解的云母表面外延生长的金膜）之间的电势差，又观察到 DNA 分子在基底表面呈现不同的吸附行为，反映出 DNA 的电化学方面的性质。在电势差为－2.3V 时，DNA 成像随着针尖扫描方向的不同，呈现有规律的可重复变化，这一结果与碱基在负电极上的反应行为相一致。在－1.3V 时，所有的 DNA 都呈现平躺并排聚集吸附状态。在－1.0V，可以观察到 DNA 分子是单个分散吸附在基底表面的。

二、大气下的 DNA 和 RNA

Beebe 等人首先在大气下观察到 DNA 双链，这一成果立即引起科学界的广泛注意。他们所得到的单个 DNA 分子链图像，显示出 DNA 分子的右手螺旋性，并可分辨出大沟和小沟。尽管在他们的图像中，DNA 分子结构有比较大的畸变（螺距 2.7～5nm），无法对 DNA 的结构做更细致的研究。但这一成果，显示 STM 能够对导电性很差的生物样品进行直接观察。

目前，在大气下用 STM 观察 DNA 所获得的最高分辨率图像，已经可以分辨出磷酸及较浅碱基对的一些结构信息。使用 TAPO［三亚丙啶氧膦，tris(1-aziridyl)phosphine oxide］把 DNA 固定到金表面上，然后进行观察，在较大视野情况下，可以看到具有右手螺旋性的 DNA 链。更进一步，研究者获得一个螺旋周期的高分辨率的 DNA 图像。图像所显示的 2 个大约呈长方形与分子轴呈 40°夹角的区域（2.0nm×1.5nm），代表着 DNA 分子的小沟，中间由一成像不清晰的部分分隔开。这一不清晰的分隔区可能是由于大沟太深，针尖试图探进其内部时由两旁产生隧道电流所造成。在小沟部分，可以分辨出更精细结构。观测到螺距约 3.5nm，而小沟宽为 1.2～1.5nm。

除了上述对 B-DNA 的研究取得了令人欣喜的成果外，人们还对 Z-DNA、A-RNA 及单链 DNA 等进行了 STM 研究，也得到许多很好的结果。

在单链 DNA 的 STM 研究方面，获得了一组关于 poly(dA) 的高分辨率图像（图 5-1）。在图 5-1(a) 中，可以看到相距 1nm 的 poly(dA) 链自左下往右

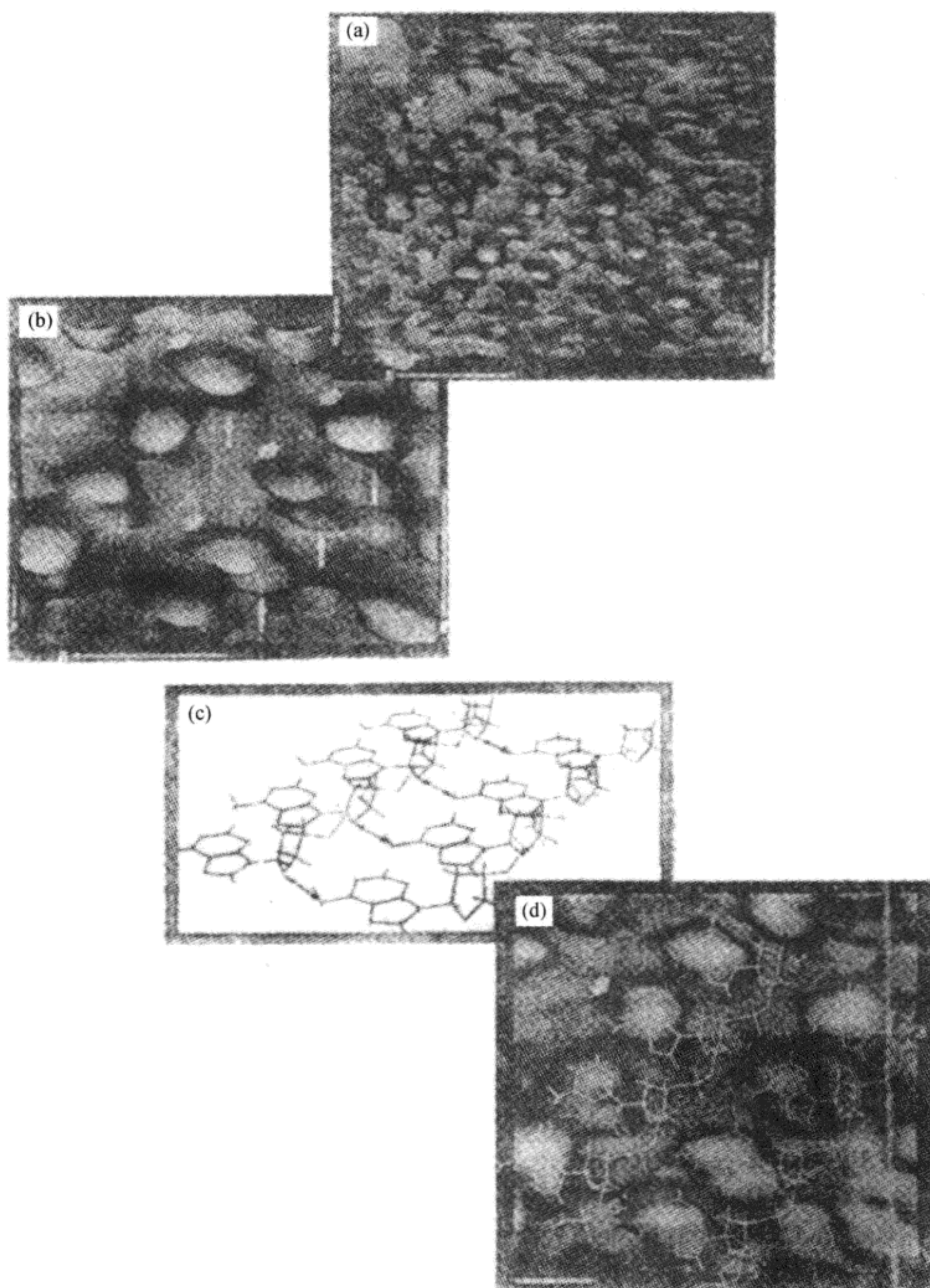


图 5-1 Dunlap 等人所获得的 poly(dA) 吸附在石墨表面的 STM 图像

(a) 三维立体图像；(b) 对中央部分进行选区放大、细箭头是腺嘌呤碱基的嘧啶环，粗箭头指示咪唑环；(c) 作者建立的分子模型示意图；(d) 将模型覆盖在 (b) 上显示吻合良好

上平行排列，沿着链的方向，每隔 0.6nm 就有一双环结构，这些双环结构在图 5-1(b) 中看得更清楚。其中大环与小环的中心相距为 0.24nm，仅略大于 poly(dA) 中腺嘌呤碱基的嘧啶环与咪唑环中心距（0.22nm）。双环轴线与链轴线夹角约 50°。2 条链之间的 N6 和 O4 之间相距为 0.3nm，能够形成氢键，从而稳定这一模型所示结构，该模型仅在碱基平面与主链峰之间的高度上有不符的地方，可能是由于不同基团会造成隧道参数的改变，以及针尖在扫描过程中会使主链上升等原因。这项研究成果，表明有可能用 STM 直接分析 DNA 的碱基顺序。

三、真空中的 DNA

早在 1983 年，人们就在真空条件下获得了第一幅 DNA 的 STM 图像，最近研究结果表明，现在已能在接近原子尺度上观察 DNA 的表面结构。图 5-2(a) 为对应的模型图。图 5-2(a) 中显示了 DNA 的 4 个螺旋周期，大沟、小沟清晰可辨。在小沟中还能分辨出与螺旋轴呈＋150°夹角的碱基对。图像所显示的数据和 A-DNA 的 X 射线晶体衍射结果吻合良好（表 5-1）。通过对图示位置作剖面线分析，可以看到小沟中碱基对的表面原子已被分辨出来，与 A-DNA 模型标准剖面线也吻合得很好。这一结果显示，已经能够对核酸表面原子结构进行直接观察。

表 5-1 是 Baldeschwieler 等人，在真空条件下获得的高分辨 A-DNA 图像数据与晶体衍射结果比较。

表 5-1　STM 和 X 射线对 DNA 的结果

项　　目	STM 数据	晶体衍射数据
螺距	2.9nm	2.85nm
小沟宽	1.0nm	1.10nm
大沟宽	0.3nm	0.27nm
分子宽	2.3nm	2.3nm
磷酸骨架宽	1.0nm	1.16nm
轴向每 2 对碱基间距	0.26nm	0.259nm
碱基对角	＋18°	＋19°

四、DNA 与蛋白质复合物

用 STM 对 recA-DNA 复合物进行研究，人们在大气下先后获得铂-碳被膜的 recA-DNA 复合物的聚集、金属被膜的单个 recA-DNA 片段的 STM 图像。

在铂-碳被膜的 recA-DNA 复合物聚集的 STM 图中，能够分辨大约 10nm 的

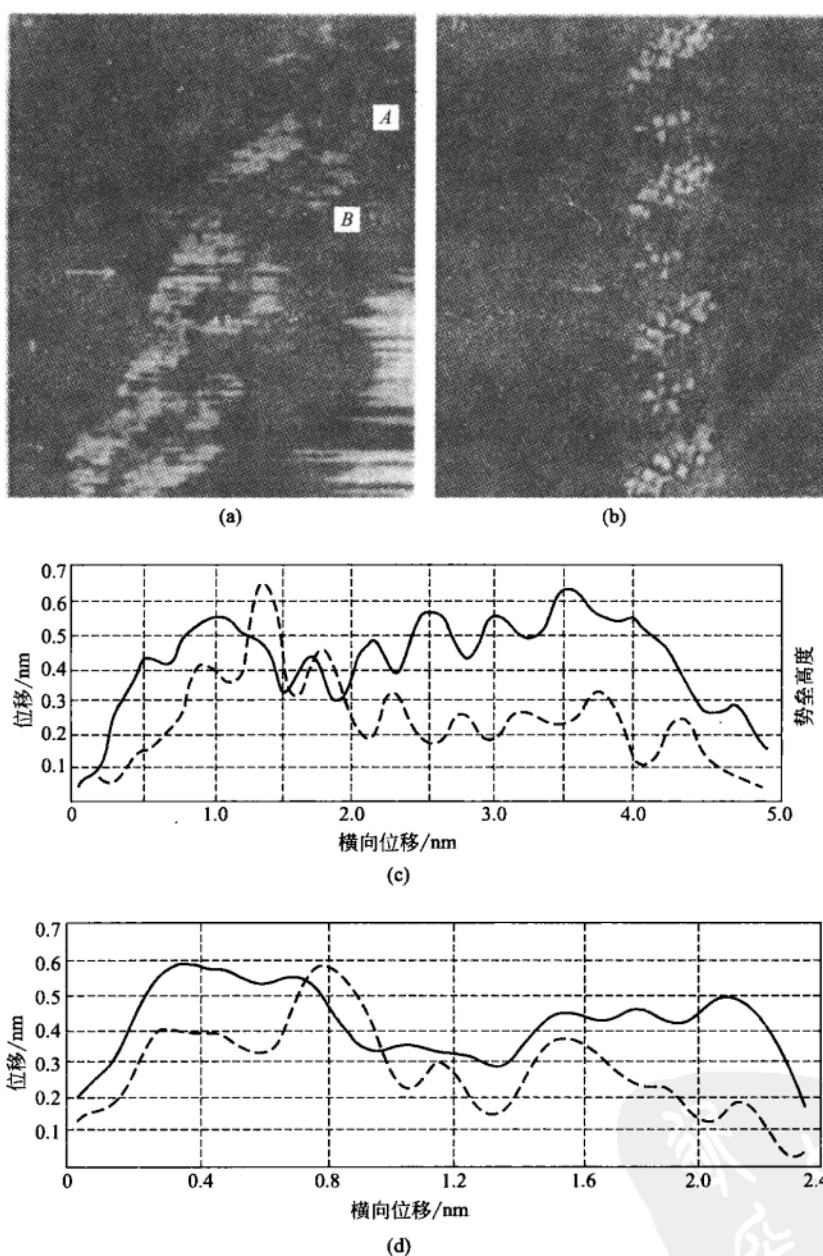


图 5-2 真空中 A-DNA 的 STM 图像

(a) A-DNA 的 STM 原始数据图；(b) 由晶体结构数据得到的 A-DNA 模型；
(c) 图中所示 *A* 线位置的剖面线分析（其中实线为 STM 形貌图剖面线，虚线为在同时获取的势垒高度图上的剖面线）；
(d) 图中所示 *B* 线位置的剖面线分析（其中实线为 STM 形貌图剖面线，虚线为在同时获取的垫垒高度图上的剖面线）

周期结构，显示出 recA-DNA 链并列排在一起，另外发现更精细的结构，这些结构被认为是 recA 的单体。

在金属被膜的和裸露的 recA-DNA 复合体的单链图像中，recA-DNA 链呈典型的右手螺旋结构，在每个螺圈的可见区域，能够分辨出 3～4 个部分，每一部分便是 recA 原体，每周螺旋应包含大约 6 个 recA 原体，在螺旋的局部位置，发现有 2 个相继的螺旋周期紧密地融合在一起，而在另一些位置上，发现单一螺旋分裂为 2 个区域，这些特征无论在裸露的还是被膜的图像中都能分辨出，说明这些特征是由 recA-DNA 固有性质决定的，裸露的 recA-DNA 图像要比被膜的具有更好的分辨率。

五、经变性处理的 DNA 的二级结构及三级结构

DNA 的结构虽然是相对稳定的，但并不是一成不变的。天然的双链 DNA 分子，在热变性条件下，被加热了的 DNA 分子能够发生解旋而形成单链分子。如果迅速冷却，大部分的 DNA 将不会重新形成和原来 DNA 一样的双螺旋结构，从而产生许多结构变化。由于这种结构变化是非均一的，可能产生各种结构，因而限制了其他结构研究手段的应用。把这种经过处理的 DNA 溶液滴加在载体表面，干燥后用 STM 加以观察，可以观察到变性处理引发的各种构象变化。由于 STM 只能观察样品最表面的结构状态，对于复杂的三维结构的解释有一定的困难，因而许多复杂的结构变化虽然被 STM 观察到，但很难解释。虽然相信被我们称为“无规线团”的结构并非“无规”可循，但在目前的解释水平上，只好暂时放弃，而去解释一些十分简单明确的变化。在二级结构方面，我们观察到 DNA（HindⅡ）经变性处理后在同一双链上形成既有左旋又有右旋的片段。在得到表面形貌图的同时，我们还得到了势垒高度图像。在样品的不同部位，我们还观察到“弹簧状”三级结构。这些研究结果拓宽了人们对 DNA 结构多样性的认识，并表明 STM 在不占优势的 DNA 反常构象方面具有应用前景。

除了上面提到有关核酸工作外，还有许多研究人员也分别获得了许多关于 DNA 的研究结果。另外，Milds 等人还获得了溴乙锭嵌入 DNA 的 STM 图像。所有这些研究成果，为 STM 在核酸结构研究中的应用打下了基础。

第三节　蛋白质的 STM 研究

蛋白质是生命结构的构成者，也是基本生命活动的功能执行者。构成蛋白质的基本单位是氨基酸。氨基酸组成肽链后，能够卷曲、折叠，进而形成结构复杂多样、执行绝大部分生命功能的蛋白质。蛋白质又可划分为结构蛋白和功能蛋白

两大类。目前STM研究已涉及氨基酸、人工合成多肽、结构蛋白和功能蛋白等主要领域。

一、氨基酸和多肽

对吸附在高定向裂解石墨表面的氨基酸进行STM研究，分别获得色氨酸、甘氨酸、亮氨酸及蛋氨酸等氨基酸STM图像。这些氨基酸分子的图像都表现为大小符合分子尺度的亮点。目前，更高分辨率的图像未能得到。

对人工合成的多聚γ-苯基-L-谷氨酸（PBLG）的STM研究表明，PBLG在各种不同的溶液条件下，可以呈现不同的构象。

二甲基甲酰胺（DMF）、氯仿、苯可使PBLG呈现α-螺旋结构，二氯乙酸（DCA）能使PBLG形成无规线团结构。Mcmaster等人分别获得了PBLG在DCA、氯仿及DMF条件下的STM图像。PBLG溶于DCA后，呈现无规律的团状结构，这与DCA的作用效果相符合，而氯仿则使PBLG表现出聚集在一起的周期性结构，DMF则更进一步使PBLG形成一种高度有序的、具有强烈螺旋结构的液晶态结构。这一成果，显示STM能够真实地反映出多肽乃至蛋白质的三维结构。

二、结构蛋白

迄今为止，在结构蛋白的STM研究方面，主要是对胶原蛋白、细胞骨架蛋白以及HPI蛋白等的研究有了一些成果。

在对胶原蛋白的研究中，先是获得了金属膜的Ⅳ型胶原蛋白的网状结构以及单个纤维的STM图像，图中能够看到高4～5nm的末端球状区域。

在对裸露的Ⅰ型胶原蛋白进行STM研究中，获得了高分辨的图像，能够看到单个胶原蛋白链上约9nm的周期性峰。研究者认为这一周期反映了胶原蛋白单体链的周期性。而图中显示的3nm周期性，则反映了胶原蛋白的三体螺旋状态，图像中纤维宽度约为1.5nm，与已知的宽度相符合。

在对细胞骨架的STM研究中，已经分别获得了微管蛋白和中等纤维的图像。在微管蛋白的图像（图5-3）中，可以分辨出5～6条约4nm粗原纤维，同时可以分辨出花生状的结构（8～4nm）可能是微管蛋白亚基。在中等纤维的图像中，能够分辨出互相缠绕的亚纤维结构。



图5-3　微管蛋白的STM图像

三、功能蛋白

1. 对蛋白质聚集体的研究

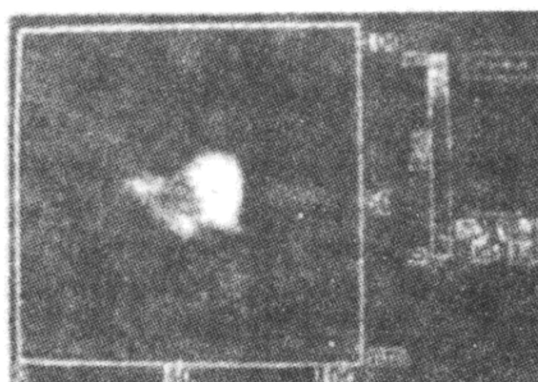
把溶菌酶及胰凝乳蛋白酶原 A 吸附在石墨基底上，用 STM 研究发现在这 2 个系统中，蛋白质在石墨上都呈现某种规律性排列。在溶菌酶体系中，随着初始浓度的不同，滴在石墨上后溶菌酶体系能够呈现周期从约 4nm（溶菌酶分子的大小）到 15nm 的不同二维排列形式。在胰凝乳蛋白酶原 A 体系中，研究者同样发现了小范围的二维有序排列。他们认为，这样二维晶体的形式，除了与蛋白质之间的相互作用有关外，还可能与扫描过程及基底与样品的相互作用有关。这一结果显示可能把 STM 用于研究蛋白质的外延晶体生长，也有可能作蛋白质的结构测定。

2. 对分散的蛋白质的研究

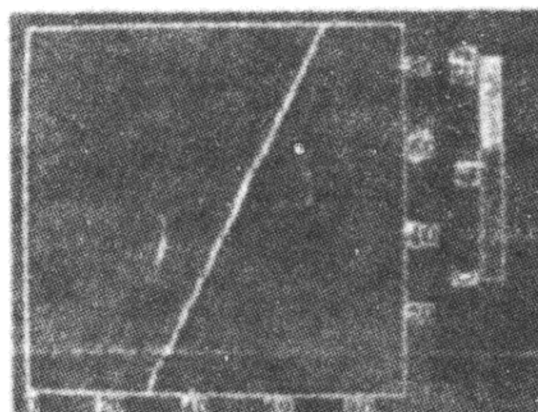
利用 Hopping 技术，人们已经获得了猪胃蛋白酶的 STM 图像。无论是裸露的样品还是碳被膜的样品，都分别获得了聚集状态和单个状态的分子图像，裸露的单个胃蛋白酶的图像显示出 STM 研究结果在分子横向尺度上与已知结果相吻合，但分子高度只有已知结果的五分之四。图像中分子表面形貌也与 X 射线晶体衍射结果相符合。在覆以碳膜样品的 STM 图中，发现分子横向尺度稍微偏大，而高度则只有裸露样品的四分之一。这可能与镀膜过程有关。在镀膜样品的分子表面，发现了非常复杂的结构，这种结构尚不能解释。

除了对单一的功能蛋白外，还对酶复合物进行了 STM 研究。研究在肌肉收缩过程中发挥作用的磷酸化酶激酶及其底物磷酸化酶 b 所组成的系统，分别获得 2 种酶及其复合物的 STM 图像（图 5-4）。图 5-4(a) 所示的磷酸酶激酶全酶呈蝴蝶状，翅展为 (23.7 ± 3.2)nm，翅最窄处为 (12.1 ± 1.4)nm，翅长（与翅边平行测量）为 (21.3 ± 2.0)nm，分子厚度平均为 (1.4 ± 0.03)nm。这被认为是由 16 个亚基分为 2 组后分别构成 2 个翅膀，然后结合在一起形成全酶，即 $(\alpha_2, \beta_2, \Gamma_2, \delta_2)_2$。图 5-4(b) 显示的是磷酸代酶 b 的 STM 图像，靠右边的是由 2 个二聚体以共平面的方式组成四聚体，中间是磷酸代酶 b，二聚体沿长轴（—11.2nm）首尾联结的磷酸化酶链（宽 5.3nm），而右侧为 2 个四聚体相连形成八聚体。除了在以上 2 幅图中观察到的这 2 种酶的存在状态外，还观察到半个蝴蝶翅膀（磷酸化酶激酶全酶的半分子 α_2，β_2，Γ_2，δ_2），以及磷酸化酶激酶形成酶二聚体并列相连组成的链（宽约 11nm）。图 5-4(c) 是磷酸化酶 b 与磷酸化酶激酶形成酶-底物复合物后的 STM 图像。在图中，可见到 3 条约 11nm 的磷酸化酶 b 链（二聚体并排连接）与磷酸化酶激酶连接在一起。

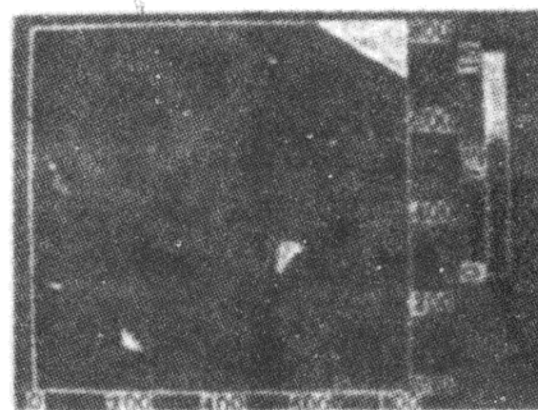
以上简述了 STM 技术在结构分子生物学研究中的某些应用。另外，应用 STM 技术在大尺度生物样品表面形貌的观察和生物膜的 STM 研究上，近几年来均取得进展。



(a)



(b)



(c)

图 5-4 磷酸化酶激酶及其底物磷酸化酶b系统和STM图像

(a) 磷酸化酶激酶全酶；(b) 磷酸化酶 B；(c) 它们的复合物



参 考 文 献

[1] 徐春祥．有机化学．第2版．北京：高等教育出版社，2009.
[2] 陆阳，李耕勤．有机化学．北京：科学出版社，2010.
[3] 宁永成．有机化合物结构鉴定与有机波谱学．第2版．北京：科学出版社，2002.
[4] 苏克曼，潘铁英，张玉兰．波谱解析法．上海：华东理工大学出版社，2002.
[5] 唐恢同．有机化合物的光谱鉴定．北京：北京大学出版社，1992.
[6] Wade Jr. L G. 有机化学．王梅，姜文凤改编．第6版．北京：高等教育出版社，2006.
[7] 倪沛洲．有机化学．第6版．北京：人民卫生出版社，2007.
[8] 邢其毅，裴伟伟，徐瑞秋，裴坚．基础有机化学：上册．第3版．北京：高等教育出版社，2005.
[9] [美] JohnMcMurry. 有机化学基础．北京：机械工业出版社，2006.
[10] 朱明华．仪器分析．第3版．北京：高等教育出版社，2000.
[11] 陈洁．有机波谱分析．北京：北京理工大学出版社，2003.
[12] 张汉辉．波谱学原理及应用．北京：化学工业出版社，2011.



[General Information]
书名=波谱学基础
作者=罗素琴，刘乐乐，王建华主编
页数=120
SS号=12962595
出版日期=2012.05
出版社=化学工业出版社
尺寸=26cm
原书定价=18.00
参考文献格式=罗素琴，刘乐乐，王建华主编.波谱学基础.北京市：化学工业出版社,2012.05.
内容提要=本教材阐述了紫外光谱、红外光谱、质谱、核磁共振光谱的基本原理，及其在有机化合物结构分析和一些药物结构分析中的应用。精选了一些具有代表性的谱图和实例。